

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA  
CURSO DE FARMÁCIA

LARISSA SOUSA RIBEIRO

**EFEITO ANTINOCICEPTIVO E ANTI-INFLAMATÓRIO DE *JACARANDA*  
*DECURRENS* CHAM EM ROEDORES**

São Luís

2018

**LARISSA SOUSA RIBEIRO**

**EFEITO ANTINOCICEPTIVO E ANTI-INFLAMATÓRIO DE *JACARANDA*  
*DECURRENS* CHAM EM ROEDORES**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da  
Universidade Federal do Maranhão como requisito  
para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Iracelle Carvalho Abreu.

São Luís

2018

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Sousa RIBEIRO, LARISSA.

EFEITO ANTINOCICEPTIVO E ANTI-INFLAMATÓRIO DE JACARANDA  
DECURRENS CHAM EM ROEDORES / LARISSA Sousa RIBEIRO. -  
2018.

43 f.

Orientador(a): Iracelle Carvalho Abreu.

Curso de Farmácia, Universidade Federal do Maranhão,  
SAO LUIS, 2018.

1. Carobinha. 2. Dor. 3. Inflamação. I. Carvalho  
Abreu, Iracelle. II. Título.

**LARISSA SOUSA RIBEIRO**

**EFEITO ANTINOCICEPTIVO E ANTI-INFLAMATÓRIO DE *JACARANDA  
DECURRENS* CHAM EM ROEDORES**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da  
Universidade Federal do Maranhão como requisito  
para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Iracelle Carvalho Abreu.

APROVADA EM: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Iracelle Carvalho Abreu. (Orientadora)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Selma do Nascimento Silva

---

Prof.<sup>a</sup> Msc.<sup>a</sup> Crisálida Machado Vilanova

## **Dedico**

*À minha avó, Ivone Ambrósio, por todas as vezes que orou sobre minhas mãos, abençoando as obras que seriam feitas por elas, e aos meus pais, por todo o carinho e atenção durante a minha jornada.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Deus pelo dom da vida e sabedoria concedida até aqui. À Deus toda honra e glória seja dada.

Aos meus pais, Domingos e Silvana, e meu irmão, Davi, por me ensinarem o caminho que leva a Cristo, pela educação, sustento, e por acreditarem em mim e no que posso alcançar. Sem vocês nada disso seria possível.

À minha família, minha tia Vânia, minha irmã Ana Valéria, meu tio Antônio Carlos e meus sobrinhos e primos por todo carinho e incentivo, e por nunca deixarem de acreditar no que posso vir a fazer.

Ao amor da minha vida, José Murilo, por me acompanhar e ser meu braço direito em tudo que faço. Obrigada por seu amor e carinho diário. Te amo.

À minha sogra, Osana, por todas as orações e incentivos.

À minha orientadora, Iracelle, pela positividade, mesmo diante das dificuldades que enfrentamos juntas para realização desse projeto

Às professoras da banca, Selma e Crisálida, por aceitarem o convite

Ao Laboratório de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia – UFMA, ao Laboratório de Microbiologia – CEUMA, e ao Laboratório de Produtos Naturais por toda estrutura cedida. E aos profissionais que nos acompanharam, aos professores e técnicos, Raquel, Romão, Fábio, Marilene, Elaine, Denilson, Aruanã, Lídio, Cláudia Rocha, dona Rosa e Rita de Cássia.

À FAPEMA, CNPQ e PIBITI pelo auxílio financeiro.

Aos meus colegas de laboratório que me ensinaram e auxiliaram em todos os processos desse projeto, Mariana, Wermerson, Gustavo, Neemias, Camila, Sulamita, Thâmara, Karla Maria e Talita.

Aos amigos que tenho no curso, Malene, Pollyanna, Alice, Ana Lurdes, Carla, Marcos, Lenivaldo, Eduardo, Sávyo, Daniella e Ingrid, por fazerem das horas difíceis, suportáveis, diante do carinho que recebo de vocês.

Às professoras Sally, Lili, Andréia e a Farmacêutica do CIM, Kelly Maluf pelos incentivos e auxílios durante toda a minha graduação.

Agradeço a todos com todo o amor que sinto por vocês.

*“A persistência é o caminho do êxito”*

Charlie Chaplin

## RESUMO

A espécie *Jacaranda decurrens* Cham, conhecida no Brasil como “carobinha”, é endêmica do Cerrado, pertencente à família Bignoniaceae, encontrada nas regiões Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Maranhão e São Paulo. É utilizada na medicina popular como anti-inflamatório, antimicrobiano, no tratamento de afecções cutâneas, ferimentos por sífilis e cicatrização de úlceras externas. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório da formulação farmacêutica de uso oral contendo Extrato Hidroalcoólico de *Jacaranda decurrens* Cham (EHJ) em roedores. Obteve-se o extrato hidroalcoólico das folhas pulverizadas da espécie pelo método de maceração em etanol 70%, proporção 1:10 (p/v), durante 15 dias, filtrado a vácuo, concentrado em rotaevaporador e liofilizado. Parte do extrato foi utilizada para os testes de prospecção fitoquímica e cromatografia líquida acoplado a espectrômetro de massa com UV, com fonte de ionização em eletrospray e analisador Ion Trap. Posteriormente, foi desenvolvida a formulação farmacêutica de uso oral contendo o EHJ (FoEHJ) para os testes farmacológicos. Foram utilizados os testes de contorção abdominal induzida por ácido acético e teste de formalina para avaliar o efeito antinociceptivo, e peritonite induzida por carragenina, para avaliar o efeito anti-inflamatório. As análises fitoquímicas revelaram flavonoides, taninos condensados e compostos fenólicos fortemente presentes, e compostos como Rutina, Quercetina, Luteolina e Kampeferol. No modelo de contorção abdominal, os grupos tratados com FoEHJ (100 e 250mg/Kg) mostraram redução da sensação dolorosa, de 44,70% e 67,61%, respectivamente, no período de 5-10 min. E ao longo de 20min de observação, os grupos FoEHJ 100 e 250 mg/Kg apresentaram redução de 40,81% e 54,36% do número de contorções abdominais. No teste de formalina, observou-se diminuição de 44,09% da manifestação de dor do grupo FoEHJ 250mg/Kg, nos primeiros 5 min, e, no período de 15-30min, efeito dose dependente, havendo redução da sensação algésica de 50,63% e 86,02%, nas doses de 100 e 250mg/Kg, respectivamente. No modelo de peritonite, a FoEHJ, nas doses de 100 e 250mg/Kg, inibiu, respectivamente, em 24,1% e 37,6% a migração leucocitária, diminuindo também em 51,3% e 64,47%, o recrutamento de neutrófilos. Pode-se inferir que a FoEHJ diminuiu o estímulo nociceptivo, possivelmente por ser capaz de reduzir a migração leucocitária, principalmente, neutrófilos, de forma a modular a liberação de mediadores químicos inflamatórios no local da lesão que induzem hiperalgesia, contribuindo assim para os efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório.

Palavras-chave: Dor. Inflamação. Carobinha

## ABSTRACT

The species *Jacaranda decurrens* Cham, known in Brazil as "carobinha", is endemic to the Cerrado, belonging to the Bignoniaceae family, found in Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Maranhão and São Paulo. It is used in folk medicine as anti-inflammatory, antimicrobial, in the treatment of cutaneous affections, syphilis wounds and cicatrization of external ulcers. This work aimed to evaluate the antinociceptive and anti-inflammatory effects of oral pharmaceutical formulation containing Hydroalcoholic Extract of *Jacaranda decurrens* Cham (EHJ) in rodents. The hydroalcoholic extract of the pulverized leaves of the species was obtained by maceration in 70% ethanol, 1:10 (w / v) ratio, for 15 days, vacuum filtered, concentrated in rotary evaporator and lyophilized. Part of the extract was used for the tests of phytochemical prospecting and liquid chromatography coupled to a mass spectrometer with UV, with electrospray ionization source and Ion Trap analyzer. Subsequently, the oral pharmaceutical formulation containing EHJ (FoEHJ) was developed for pharmacological tests. Acetic acid-induced abdominal writhing tests and formalin test were used to evaluate the antinociceptive effect and carrageenan-induced peritonitis to evaluate the anti-inflammatory effect. Phytochemical analyzes revealed flavonoids, condensed tannins and strongly present phenolic compounds, and compounds such as rutin, Quercetin, Luteolin and Kampeferol. In the abdominal contortion model, the groups treated with FoEHJ (100 and 250mg / kg) showed a reduction of pain sensation, of 44.70% and 67.61%, respectively, in the period of 5-10 min. And during 20 minutes of observation, the groups FoEHJ 100 and 250 mg / kg showed a reduction of 40.81% and 54.36% of the number of abdominal contortions. In the formalin test, 44.09% of the pain manifestation of the FoEHJ 250 mg / kg group was observed in the first 5 min and, in the period of 15-30 minutes, a dose-dependent effect, with a reduction of the algescic sensation of 50%, 63% and 86.02% at the doses of 100 and 250mg / kg, respectively. In the peritonitis model, the FoEHJ, at doses of 100 and 250 mg / kg, inhibited leukocyte migration, respectively, by 24.1% and 37.6%, decreasing also by 51.3% and 64.47% neutrophils recruitment. It can be inferred that FoEHJ decreased the nociceptive stimulus, possibly because it is able to reduce the leukocyte migration, mainly neutrophils, in order to modulate the release of inflammatory chemical mediators at the site of the lesion that induce hyperalgesia, thus contributing to antinociceptive and anti-inflammatory effects.

Keywords: Pain. Inflammation. Carobinha

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Quadro 1</b> - Scores utilizados na Avaliação Fitoquímica do Extrato hidroalcoólico de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham.....	23
<b>Quadro 2</b> - Descrição dos grupos experimentais para o teste de Contorção Abdominal induzidos por ácido acético .....	244
<b>Quadro 3</b> - Descrição dos grupos experimentais para o teste de Formalina 1% .....	255
<b>Quadro 4</b> - Descrição dos grupos experimentais no modelo de inflamação .....	266
<b>Figura 1</b> - Cromatograma de íon total do extrato hidroalcoólico de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham adquirido por LC-ESI-MS (m/z: 100–1000 Da).....	288
<b>Figura 2</b> - Número de contorções abdominais em camundongos. Grupo SALINA, INDO, e tratado com o extrato (EHJ 100 mg/Kg e EHJ 250 mg/Kg) após indução imediata da dor por ácido acético 1%.....	29
<b>Figura 3</b> - Número de contorções abdominais acumuladas, induzidas por ácido acético 1% em camundongos. Grupo SALINA, INDO, FoEHJ 100mg/Kg e FoEHJ 250mg/Kg .....	31
<b>Figura 4</b> - Tempo (seg.) de lambidas na pata. Grupo controle negativo (SALINA), controle positivo (INDO), e tratado com o extrato (FoEHJ 100 mg/Kg, FoEHJ 250 mg/Kg) após indução imediata da dor por formalina 1%. .....	322
<b>Figura 5</b> - Contagem absoluta de leucócitos totais e de neutrófilos (células/ mm <sup>3</sup> ) em lavado peritoneal de ratos. Grupo SALINA, carragenina 1% (CG 1%), indometacina 10mg/Kg (INDO), FoEHJ 100mg/Kg e FoEHJ 250mg/Kg após 4 horas de indução da inflamação por carragenina 1%.....	33

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Constituintes químicos presentes em <i>Jacaranda decurrens</i> Cham.....	27
<b>Tabela 2</b> - Identificação dos compostos de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham por FIA-ESI-IT/MS <sup>n</sup> .....	28
<b>Tabela 3</b> - Percentual de inibição das contorções abdominais com ácido acético. Grupo controle negativo (SALINA), controle positivo (INDO), e tratado com o extrato (FoEHJ 100 mg/Kg e FoEHJ 250 mg/Kg) após indução imediata da dor por ácido acético 1% .....	30
<b>Tabela 4</b> - Inibição da manifestação do estímulo nociceptivo com Formalina. SALINA, INDO, e tratado com FoEHJ 100 e 250mg/Kg após indução imediata da dor.....	32
<b>Tabela 5</b> - Contagem absoluta e percentual de neutrófilos em relação à contagem global de leucócitos, em lavado peritoneal de ratos. Grupo SALINA, CG 1%, INDO 10 mg/ Kg, FoEHJ 100mg/Kg e FoEHJ 250 mg/ Kg .....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ATP</b>	Adenosina Trifosfato
<b>CG</b>	Carragenina
<b>CLAE</b>	Cromatografia líquida de Alta Eficiência
<b>COX</b>	Ciclo - oxigenase
<b>EHJ</b>	Extrato Hidroalcolico de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham
<b>FoEHJ</b>	Formulação farmacêutica contendo Extrato Hidroalcolico de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham
<b>i.p.</b>	Intraperitoneal (via)
<b>IASP</b>	Associação Internacional sobre o Estudo da Dor
<b>IL</b>	Interleucina
<b>iNOS</b>	Óxido Nítrico Sintase induzida
<b>LC-UV-ESI-IT-MS</b>	Cromatografia líquida acoplada a espectômetro de massas com Ultra Violeta, com fonte de ionização em eletrospray e analisador Ion Trap
<b>LOX</b>	Lipo - oxigenase
<b>NO</b>	Óxido Nítrico
<b>PGs</b>	Prostaglandinas
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>SNP</b>	Sistema Nervoso Periférico
<b>TNF – <math>\alpha</math></b>	Fator de Necrose Tumoral $\alpha$

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
2.1 Processo doloroso .....	14
2.2 Processo inflamatório .....	15
2.3 <i>Jacaranda decurrens</i> Cham .....	16
2.4 Modelos experimentais utilizados.....	19
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>21</b>
3.1 Objetivos gerais.....	21
3.2 Objetivos específicos .....	21
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
4.1 Material vegetal.....	22
4.2 Preparação do extrato hidroalcoólico de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham (EHJ) .....	22
4.3 Análise fitoquímica do EHJ .....	22
4.3.1 Análise cromatográfica .....	23
4.4 Desenvolvimento da formulação oral.....	23
4.5 Animais .....	24
4.5.1 Avaliação de atividade analgésica.....	24
4.5.2 Avaliação de atividade anti-inflamatória.....	26
4.6 Estatística.....	27
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>27</b>
5.1 Análises qualitativas e semi-quantitativas .....	27
5.2 Análise cromatográfica.....	27
5.3 Teste de atividade antinociceptiva.....	29
5.3.1 Contorções abdominais induzidas por ácido acético 1% em camundongos .....	29
5.3.2 Teste da formalina 1% em camundongos .....	31
5.4 Teste de atividade anti-inflamatória .....	32
5.4.1 Peritonite induzida por carragenina 1% em ratos.....	32
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>39</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A nocicepção é o reconhecimento de sinais dolorosos pelo Sistema Nervoso, que interpreta informações relacionadas a possíveis lesões ou processo inflamatório. O estímulo nociceptivo em condições normais, é caracterizado pelo estímulo sensorial captado pelos receptores do Sistema Nervoso Periférico (SNP) e transmitido ao Sistema Nervoso Central (SNC), local onde é decodificado e interpretado. No entanto, o termo “dor” está relacionado não só ao estímulo sensorial, mas também à resposta emocional (RIOS, 2014).

Diante de uma lesão (física ou química) ou agente invasor, o organismo reage desenvolvendo um processo inflamatório, que tem por objetivo destruir, diluir ou isolar o agente lesivo (GODIN, 2014), recrutando para o meio, células como os macrófagos, neutrófilos e mastócitos, as quais liberam citocinas e mediadores inflamatórios, que sensibilizam os nociceptores, estabelecendo um estado de hipernocicepção ou hiperalgesia. (NOGUEIRA, 2011; AMORIM, 2013).

Devido ao grande incômodo sofrido pelos pacientes por conta dos sinais e sintomas da inflamação (dor, edema e febre, principalmente) e ao aumento no consumo de drogas anti-inflamatórias, as quais possuem diversos efeitos adversos, a comunidade científica passou a buscar novos medicamentos. A Fitoterapia tem se mostrado uma boa fonte de novas moléculas com capacidade analgésica e anti-inflamatória, e menores efeitos colaterais (BARTOULINI, 2010; LOPES et al., 2011; SANTOS et al., 2012), destacando-se a espécie vegetal *Jacaranda decurrens* Cham.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Processo doloroso

A dor é um mecanismo importante de proteção do organismo, que visa alertá-lo sobre lesão ou processo de agressão (OLINDA, 2010). Ela é composta tanto pela interpretação subjetiva do paciente que a relata, através das características psicológicas mediante ao ambiente inserido, experiências e limiar de aceitação de dor individual, quanto pelo estímulo nociceptivo (OLINDA, 2010; NOGUEIRA 2011; MARTELLI E ZAVARIZE, 2015).

O conceito mais abrangente é estabelecido pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), o qual define a dor como “uma experiência sensorial e emocional de caráter desagradável, provocada por lesão tissular, ou atribuída a tal”, a qual altera os estados de homeostasia e interferem na qualidade de vida dos pacientes acometidos (MARTELLI e ZAVARIZE, 2015, PEREIRA, 2018).

A nocicepção é o reconhecimento de sinais dolorosos, captados através de receptores especializados, denominados de nociceptores, os quais alertam o organismo sobre reações potencialmente lesivas aos tecidos (TRINDADE, 2013; MARTELLI E ZAVARIZE, 2015). Esse mecanismo consiste numa sequência de processos: de **transdução**, com neurônios de primeira ordem advindos da periferia, os quais são responsáveis pela hiperalgesia primária na região tecidual, e levam a informação para a medula espinhal; de **transmissão**, em que os neurônios de segunda ordem se elevam pela medula espinhal; e da **modulação**, quando os neurônios de terceira ordem repassam o estímulo para o córtex cerebral (RIOS, 2014, PEREIRA, 2018).

A dor pode ser classificada de acordo com sua origem, a qual pode ser neuropática, nociceptiva e, complexa ou mista. A dor complexa ou mista envolve diversas características e necessita de associações de fármacos para o seu controle. A dor neuropática, também denominada de neurogênica, é originada de lesão tecidual e/ou patologias no sistema nervoso, decorrente de lesões nas raízes nervosas que provocam desmielinização em seu trajeto, resultando em manifestação dolorosa irradiada, aguda ou crônica. Devido à lesão do nervo, são produzidos padrões anormais de comunicação entre os neurônios na periferia, de modo que um neurônio modifica a atividade dos neurônios adjacentes (KLAUMANN et al., 2008;; MIGUEL et al., 2012; TRINDADE, 2013). Apesar de suas características serem complexas, os principais sintomas da dor neuropática são: hiperalgesia, decorrente das alterações centrais ou espinhais e a sensibilização continuada dos nociceptores; dor espontânea e alodinia (PEREIRA, 2018).

Já a dor nociceptiva é originada pela excessiva estimulação dos neurônios nociceptores em resposta à lesão tecidual e diminuição do limiar de excitabilidade necessário para ativá-los, o que leva ao aumento da atividade espontânea da célula nervosa (FRANCHIN, 2012). Tem como função a proteção do organismo contra a lesão identificada, mediante um estímulo externo, potencialmente prejudicial e ainda aos estímulos internos, caracterizando-a como uma dor aguda e momentânea, acompanhada de inflamação (TRINDADE, 2013; PEREIRA, 2018).

Ao serem detectados os estímulos dolorosos, a informação é transmitida por fibras aferentes primárias do tipo A $\delta$  e C, por meio da liberação de neurotransmissores como Glutamato, que gera a sensação de dor rápida, e mediadores inflamatórios, liberados por macrófagos, mastócitos, células endoteliais ou nervos traumatizados, como Substância P, Prostaglandinas (PGs), Somatostatinas, Colecistocinina, Trifosfato de Adenosina (ATP), Histamina, Citocinas, Eicosanoides, Serotonina e Óxido Nítrico (NO), as quais geram um estímulo doloroso mais prolongado, característico da manifestação de dor inflamatória (KRAYCHETE et al., 2006; KIM et al., 2010; NOGUEIRA, 2011; GODIN, 2014; WOLKERSTORFER; HANDLER; BUSCHMANN, 2016; SERRA, 2017, PEREIRA, 2018;).

As fibras nervosas, que direcionam os estímulos gerados pela lesão, são caracterizadas de acordo com seu grau de mielinização, sendo as fibras A $\delta$  de condução rápida (10-30m/s), mielinizadas e são responsáveis pela condução da primeira sensação dolorosa, enquanto as fibras C conduzem lentamente o impulso (0,5-2 m/s), não são mielinizadas e transmitem um estímulo tardio, atrasado e difuso (OLINDA, 2010; AMORIM, 2013; PEREIRA, 2018).

## **2.2 Processo inflamatório**

O sistema imunológico é constituído por órgãos, células e moléculas, os quais tem por finalidade manter a homeostase do organismo, respondendo a estímulos externos que possam ser danosos ou mesmo fatais (SERRA, 2017). O processo inflamatório consiste em uma sequência complexa de eventos que envolvem os leitos capilares, o plasma, as células circulantes, os neurônios sensoriais e os constituintes celulares e extracelulares desses tecidos (GODIN, 2014), em respostas a diferentes estímulos, exógenos ou endógenos, de natureza química, física ou biológica que venham interferir na homeostasia (BEZERRA, 2012; GODIN, 2014).

A inflamação pode se manifestar como um processo agudo ou crônico. Quando manifestada de forma aguda, tem duração relativamente curta, podendo se apresentar em minutos, horas ou alguns dias. As características primárias na fase aguda são o aumento do

fluxo sanguíneo, diminuição da velocidade sanguínea local e aumento na permeabilidade dos capilares, resultando em rubor e calor, seguido pelo extravasamento de plasma, proteínas plasmáticas, ativação de células endoteliais e dos leucócitos circulantes, que passarão a expressar moléculas de adesão e mediadores inflamatórios (VERGNOLLE, 2008; ROBBINS et al, 2010; BEZERRA, 2012; GODIN, 2014), permitindo a migração transendotelial dos leucócitos, principalmente neutrófilos, para atuarem no local da injúria, o que contribuem para o desenvolvimento do edema (DIAS, 2013). Já a fase crônica é caracterizada pela proliferação celular (SANTOS, 2011; BEZERRA, 2012; GODIN, 2014).

A resposta inflamatória, propriamente dita, tem seu início com a vasodilatação, estimulada pela liberação de fatores como: NO, bradicinina, histamina, interleucinas (IL) produzidas por macrófagos e PGs das séries E, os quais são responsáveis pelas alterações homeostáticas características do quadro inflamatório (NOGUEIRA, 2011; NICHOLSON, 2016). Para a produção de dor, primeiramente, há a liberação de mediadores para a produção das citocinas, como IL-1, IL-6, fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), PGs, histamina, leucotrienos, serotonina, adenosina e substância P (NOGUEIRA, 2011; AMORIM, 2013; OLIVEIRA et al., 2016).

### **2.3 *Jacaranda decurrens* Cham**

#### **Aspectos botânicos**

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Lamiales

Família: Bignoniaceae

Gênero: *Jacaranda*

Espécie: *Jacaranda decurrens* Cham

A família Bignoniaceae reúne 120 gêneros, com aproximadamente 750 espécies, incluindo árvores, lianas, arbustos e raramente ervas. Os gêneros mais importantes da família, com ampla distribuição nas regiões tropicais, são *Tabebuia* e *Jacaranda* (ZATTA, 2008).

O gênero *Jacaranda* contém 49 espécies, as quais estão distribuídas nas regiões tropicais do Globo, principalmente nas Américas Central e do Sul. A maior parte das espécies desse gênero consiste em árvores, com folhas bipinada opostas, terminal, axilares ou inflorescência panícula. Os frutos são em formato de cápsulas achatadas oblongas, com numerosas sementes

hialinas ou acastanhadas, elípticas, irregularmente crenuladas e ala frágil (ZATTA, 2008; SERRA, 2017).

Devido ao uso na medicina popular, as espécies de *Jacaranda* têm obtido destaque em vários levantamentos etnobotânicos, como exemplo, têm-se a *J. caroba*, utilizada como adstringente, diurético, tratamento de ferimentos por sífilis e cicatrização de úlceras, ao ser preparada em forma de infusão para uso interno ou para tomar banho com o macerado das folhas. Ademais, foi relatado o uso das cascas de *Jacaranda acutifolia* no tratamento de feridas e dermatite, destacando-se também por propriedades adstringentes e diuréticas (BRAGA et al, 2003; SERRA, 2017).

Passero et al. (2007) verificaram o efeito anti-leishmania do extrato bruto de folhas de *J. puberula* contra promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. O extrato teve sua ação comprovada em macrófagos infectados nas concentrações de 31, 52, 125 e 250µg/ml, no entanto, apresentou efeito citotóxico em concentrações mais elevadas (250µg/ml). Para isso foram feitas frações semi-purificadas, a fim de minimizar os malefícios. Para explicação sobre o efeito anti-leishmania, o autor sugere como mecanismo a ação do extrato na inibição da cascata de ácido araquidônico que bloqueia os derivados desse processo, dificultando a atividade supressora das prostaglandinas nos macrófagos, de tal forma que polariza a resposta imune para o tipo T helper 1, sendo esse um fator permissivo para a eliminação da infecção.

A espécie *Jacaranda caucana* demonstrou atividade citotóxica (DL<sub>50</sub> de 5 a 25µg / ml) do extrato metanólico das folhas contra o *Plasmodium falciparum* no estudo de (WENIGER et al., 2001), o autor também discorre sobre o uso popular dessa espécie no tratamento da leishmaniose pela população do sudoeste da Colômbia (MARTIN et al., 2009).

Já Endringer et al. (2010) observaram a presença de ácido ursólico e oleanólico ao testar a fração do extrato das espécies de *H. speciosa*, *J. caroba*, *M. hirsuta* e *S. paniculatum*, relatando que as plantas brasileiras são promissoras fontes de agentes de quimioprevenção, auxiliando assim no estudo de drogas contra o câncer.

A espécie vegetal, *Jacaranda decurrens* Cham, conhecida também como “carobinha”, é muito frequente no Cerrado; é encontrada nos Estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Maranhão e São Paulo. É um arbusto campestre pouco ramoso, apresentando raiz lenhosa, caule pubescente enquanto jovem e depois glabro, podendo chegar até 3 metros de altura. Apresenta folhas paribipinatifidas, folíolos decorrentes, estreitos, glabros na página superior, discolores e pilosos na inferior (OLIVEIRA et al., 2003; Botrel et al., 2006; CARVALHO et al., 2009; GACHET; SCHÜHLY, 2009; SERRA, 2017).

Popularmente, é utilizado o decocto ou infuso das folhas secas e/ou caule para o tratamento de afecções cutâneas e úlceras externas (RODRIGUES; CARVALHO, 2001; CARVALHO et al., 2009). Segundo a literatura científica, as avaliações farmacológicas feitas com a espécie *Jacaranda decurrens* inferem um potencial antioxidante, antimicrobiana e quimiopreventivo (RODRIGUES, CARVALHO, 2001; SANTOS et al., 2012; CARNEIRO et al., 2014)

A *J. decurrens* Cham tem seu uso popular também no tratamento da hioertensão, como depurativo do sangue, em processos infecciosos e distúrbios hepáticos (ZATTA, 2008). A infusão e decocção feitas com as folhas e cascas também têm sido empregadas para o tratamento de afecções cutâneas, e cascas para curar prurido (SILVA, 2013; SERRA, 2017)

Estudos químicos com *Jacaranda decurrens* revelaram presença do triterpeno ácido ursólico, metabólito que apresenta atividade antimicrobiana, antiviral, hepatoprotetora, imunorreguladora e inibitória de células cancerígenas humanas, glicosídeos iridóides, alcalóides, flavonas, flavonoides, polifenóis, taninos e óleos de sementes (OLIVEIRA et al., 2003; ZATTA, 2008; CARVALHO et al, 2009). Há, também, relatos na literatura sobre a atividade antiedematogênica do extrato hidroetanólico das raízes de *J. decurrens* em modelo de edema de pata induzido em ratos, semelhante ao padrão dexametasona, e sem sinais de toxicidade (SANTOS et al., 2012)

Em estudo realizado por nosso grupo, Serra (2017), avaliou os efeitos cicatrizantes em seu estudo, ao utilizar uma formulação tópica com *Jacaranda decurrens* Cham (50mg/Kg), ressaltando o potencial farmacológico da espécie, e obteve como resultado uma evolução cicatricial homogênea, relacionando, também, sua ação anti-inflamatória devido à diminuição da migração leucocitária e de citocinas inflamatórias.

Santos et al. (2012), verificaram possíveis efeitos anti-inflamatórios através do modelo de inflamação edema de pata induzido por carragenina, mostrando que o extrato de *Jacarranda decurrens* nas doses de 100 e 300 mg/kg reduziu significativamente o edema da pata traseira após 2h, e o extrato na dose de 300mg/kg mostrou resultados semelhantes ao grupo tratado com dexametasona.

Foi verificado também que o extrato hidroalcoólico das raízes de *J. decurrens* interferiu no desenvolvimento inicial do sistema reprodutivo em ratos adultos, no entanto, não houve alterações quanto a produção de espermatozoides, quando utilizado na dose de 250 ou 500mg/Kg, do 12º dia de gestação ao 21º dia da lactação (ARENA et al., 2012).

Antunes et al. (2016) observou que não houve toxicidade aguda por administração do extrato hidroalcoólico de *Jacaranda decurrens* por via oral em ratas, tampouco mortalidade,

considerando uma dose de 5000 mg/kg como segura. O autor observou redução da massa gordurosa nos animais tratados com o extrato, correlacionando-os com achados na literatura sobre tratamento alternativo para obesidade, visto que os compostos fenólicos presentes nas várias espécies do gênero *Jacaranda*, podem induzir a ativação da via adrenérgica e obterem efeitos similares ao da Sibutramina.

No trabalho de Santos et al. (2012) não foram constatadas alterações no consumo de alimentos, absorção de água ou comportamento (irritabilidade, contorção, tremores, convulsões, lacrimação e piloereção) nos animais após tratamento agudo com extrato de *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata*. Além disso, o peso absoluto dos órgãos vitais e parâmetros hematológicos e bioquímicos não apresentaram alterações estatisticamente significativas em nenhuma das doses testadas em seu estudo.

Casagrande et al., (2014) observaram que o extrato hidroetanólico de *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* tem atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* e desenvolve atividade citotóxica, tanto por apoptose tardia quanto por necrose, contra células eritroleucêmicas.

## **2.4 Modelos experimentais utilizados**

Para verificar a eficácia de novos fármacos para o tratamento de doenças inflamatórias e dolorosas são utilizados diversos modelos animais, tais como teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético, avaliação de dor neurogênica e inflamatória induzida por formalina e peritonite induzida por carragenina, que avaliam as atividades antinociceptiva e anti-inflamatória (SILVA, 2011).

A contorção abdominal induzida por ácido acético é um modelo de dor visceral, proposto por Koster e col. (1959), utilizado para triagem de novas drogas com potencial analgésico através da avaliação da atividade antinociceptiva periférica (RIOS, 2014). A manifestação de dor no animal (camundongo ou rato) é caracterizada como contração e rotação do abdômen, seguida pela extensão de uma ou ambas as patas traseiras (BOLETIM TÉCNICO, 2014). Os prótons formados pela dissociação do ácido acético podem ativar diretamente canais iônicos localizados nas fibras aferentes primárias promovendo o influxo de cálcio, despolarizando a fibra nervosa e ativando a abertura de canais de sódio dependente de voltagem, desencadeando, assim, potenciais de ação (FEIN, 2009; SILVA et al, 2013). A presença de ácido acético na cavidade peritoneal promove a liberação de diversos mediadores inflamatórios

como prostaglandinas, bradicinina, histamina, serotonina, substância P, TNF-  $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-8 entre outros (RIBEIRO et al., 2000; IKEDA et al., 2001, GUO et al., 2008).

O teste da formalina é um método de avaliação comportamental utilizado para medir a efetividade de agentes antinociceptivos (Hunnskaar & Hole, 1987). Este modelo de dor está associado à lesão tecidual, no qual a manifestação dolorosa é quantificada através da resposta comportamental provocada pela injeção subcutânea de formalina diluída na pata traseira do animal. A vantagem deste teste sobre outros métodos de nocicepção se dá pela possibilidade de avaliar dois tipos diferentes de dor ao longo de um período prolongado de tempo e, assim, permite o teste de analgésicos com diferentes mecanismos de ação. As respostas comportamentais à formalina seguem um padrão bifásico composto de uma fase inicial aguda (primeira fase), e por um período mais prolongado (segunda fase) de atividade comportamental aumentada, que pode durar até cerca de uma hora. O período entre as fases é denominado intervalo de quiescência. A primeira fase inicia-se imediatamente após a injeção de formalina e se estende pelos 5 minutos iniciais (caracterizando a dor neurogênica ou aguda), estando relacionada com a estimulação química direta dos nociceptores das fibras aferentes do tipo C e, em parte, das fibras do tipo A $\delta$ , sendo associada à liberação de aminoácidos excitatórios, NO e substância P. A segunda fase ocorre entre 15 e 30 minutos após a injeção de formalina e está relacionada com a liberação de vários mediadores pró-inflamatórios, como bradicinina, prostaglandinas e serotonina, entre outros (caracterizada como dor inflamatória). O intervalo de quiescência entre a primeira e a segunda fase é resultado de uma inibição da transmissão nociceptiva através de circuitos supra-espinhais e espinhais (SILVA et al, 2013).

A peritonite consiste na migração leucocitária induzida por carragenina, substância esta que é caracterizada por ser um polissacarídeo sulfatado derivado de algumas espécies de algas (NUNES, 2012). É amplamente empregada como agente flogístico da inflamação aguda para testar novas terapias anti-inflamatórias (SHERWOOD, TOLIVER-KINSKY, 2004). A inflamação induzida pela injeção de carragenina em cavidades como a pleural e a peritoneal é geralmente caracterizada por um acúmulo de exsudato rico em proteínas que contém grande número de neutrófilos e metabólitos do ácido araquidônico pelas vias da ciclooxigenase e lipoxigenase, além de intensa migração de células leucocitárias envolvendo a participação de mediadores pró-inflamatórios, tais como: neuropeptídios, óxido nítrico, prostaglandina E2, e citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , IL-6) ( NUNES, 2012; SILVA et al, 2013). Observa-se também que há um aumento da expressão de moléculas de adesão no endotélio vascular após a administração deste agente flogístico (IWATA et al, 2010) o que contribui para a migração leucocitária.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivos gerais**

Avaliar o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório de uma formulação farmacêutica de uso oral contendo o extrato hidroalcoólico de *Jacaranda decurrens* Cham (FoEHJ).

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Verificar a constituição fitoquímica do extrato hidroalcoólico de *Jacaranda decurrens* Cham (EHJ), de forma qualitativa e semiquantitativa;
- Verificar a atividade antinociceptiva da FoEHJ, através do teste de contorção abdominal induzido por ácido acético e do teste de Formalina a 1%, em camundongos;
- Avaliar o efeito antiinflamatório da FoEHJ em modelo de peritonite induzida por carragenina em ratos.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Material vegetal

As folhas de *Jacaranda decurrens* Cham foram coletadas em setembro de 2013, no município de São Raimundo das Mangabeiras, no Estado do Maranhão – Brasil. Uma amostra da espécie foi encaminhada ao Herbário Ático Seabra da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde está catalogada sob número 1140/SLS017212.

### 4.2 Preparação do extrato hidroalcolólico de *Jacaranda decurrens* Cham (EHJ)

Após a coleta, as folhas foram secas à temperatura ambiente, e pulverizadas em moinho elétrico, obtendo o pó moderadamente grosso (710 - 250 $\mu$ m). O material foi submetido à extração hidroalcolólica através de maceração, utilizando o etanol 70% como solvente, na proporção 1:10 (p/v), durante 15 dias, em agitação constante sob auxílio de mesa agitadora, em temperatura ambiente. Após esse período, o extrato foi filtrado a vácuo e concentrado em rota evaporador, denominando assim o produto como Extrato Hidroalcolólico de *Jacaranda decurrens* Cham (EHJ). Por fim, o extrato foi liofilizado e congelado (CARVALHO, 2009).

### 4.3 Análise fitoquímica do EHJ

Encaminhou-se uma amostra do material para o Laboratório de Produtos Naturais do Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas da UFMA, onde se realizou a avaliação fitoquímica, a fim de obter-se as análises qualitativas e semiquantitativas dos metabólitos secundários presentes nas folhas secas da espécie vegetal utilizada. A avaliação qualitativa e semiquantitativa dos constituintes químicos do material liofilizado foi realizada por meio de escores de intensidade, representados no **Quadro 1** (MATOS, 1997).

**Quadro 1** - Scores utilizados na Avaliação Fitoquímica do Extrato hidroalcolóico de *Jacaranda decurrens* Cham

Scores	Grau de intensidade
+++	Fortemente positivo
++	Moderadamente positivo
+	Fracamente positivo
-	Ausente

Fonte: Elaborado pela autora.

#### 4.3.1 Análise cromatográfica

A análise foi realizada em um aparelho de Cromatografia Líquida acoplada a espectrômetro de massa com UV, com fonte de ionização em eletrospray e analisador Ion Trap (LC-UV-ESI-IT-MS), cujo espectrômetro de massas é um LCQ Fleet, Thermo Scientific®. A coluna analítica utilizada para a separação foi uma Kinetex® C18 (2,1 x 100 mm, 100 Å e 5 µm). A análise foi realizada com água contendo 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila + 0,1% de ácido fórmico (B) acrescidos de 0,1% de ácido fórmico em gradiente exploratório, iniciando com 10% a 100% B em 6 minutos, a uma vazão de 0,4 mL/min. A amostra foi infundida no espectrômetro de massa do sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), onde foi analisada conectada a fonte de ionização em eletrospray e analisador Ion Trap, em modo negativo e detector de UV associado. Os dados do espectro de massa foram obtidos no mesmo LCQ Fleet (Thermo Scientific®).

#### 4.4 Desenvolvimento da formulação oral

Desenvolveu-se uma formulação farmacêutica de uso oral contendo o extrato das folhas secas de *Jacaranda decurrens* Cham. Para isso, foi calculado a quantidade de pó liofilizado do EHJ para obtenção das concentrações pré-definidas, em seguida, transferido a um gral. Com o auxílio de um pistilo, o pó foi dissolvido e incorporado em propilenoglicol à temperatura ambiente, e depois adicionado a um xarope. Acondicionou-se o produto acabado em recipiente apropriado e sob condições de armazenamento adequadas, sendo o mesmo denominado de Formulação farmacêutica de uso oral contendo o EHJ (FoEHJ).

## 4.5 Animais

Foram utilizados camundongos machos e fêmeas da espécie *Mus musculus*, linhagem *swiss*, com aproximadamente 45 dias de idade, para o teste de contorção abdominal, teste de formalina e ratos machos e fêmeas da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem *wistar*, com 60 dias de idade, para o modelo de inflamação induzida por carragenina. Todos os animais eram adultos e sadios ao exame clínico, fornecidos pelo Biotério Central da UFMA. Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, forradas com xilana, com ração e água *ad libitum*, e sob ciclo claro/escuro de 12hs, em temperatura de 22° C.

Este projeto de monografia está vinculado a um projeto maior: “**Estudo das ações cicatrizantes e anti-inflamatória de preparações farmacêuticas à base de plantas medicinais em roedores diabéticos**” que foi aprovado no **Departamento de Ciências Fisiológicas** no dia 04/03/15 e encaminhado e aprovado pelo **CEUA** com o protocolo de número **23115.003838/2015-58**. O projeto está vinculado também ao Projeto: “**Estudo da ação cicatrizante da preparação tópica dos extratos de *Averrhoa carambola* e *Syzygium cumini* em camundongos diabéticos**”, aprovado no **UNIVERSAL FAPEMA 00384/15**, com o termo de Outorga: **009179/2015**.

### 4.5.1 Avaliação de atividade analgésica

#### a) Contorções abdominais induzidas por ácido acético 1% em camundongos

Foram utilizados 20 camundongos da espécie *Mus musculus* (*swiss*), machos e fêmeas adultos com peso corpóreo variando entre 25 e 30g, que foram divididos em quatro grupos distintos e receberam as seguintes denominações.

**Quadro 2** - Descrição dos grupos experimentais para o teste de Contorção Abdominal induzidos por ácido acético

<b>Grupos</b>	<b>Substâncias</b>
SALINA	Ácido acético 1% + Salina
INDO	Ácido acético 1% + Indometacina
FoEHJ 100mg/Kg	Ácido acético 1%+ FoEHJ 100 mg/Kg
FoEHJ 250mg/Kg	Ácido acético 1% + FoEHJ 250 mg/Kg

Fonte: Elaborada pela autora.

Decorridos 60 min da administração da FoEHJ por via oral (100 ou 250 mg/Kg de peso corpóreo), ou 30 min de administração de indometacina por via subcutânea (10 mg/Kg), os animais receberam o ácido acético 1% por via intraperitoneal na dose de 10 mg/Kg. Os resultados foram expressos como número de contorções acumuladas a cada 5 min em função do tempo de observação de 20 min (FREIRE et al., 1993).

**b) Avaliação da dor neurogênica e inflamatória em camundongos (Teste da formalina 1%)**

Foram utilizados 20 camundongos da espécie *Mus musculus* (swiss), machos e fêmeas adultos com peso corpóreo variando entre 25 e 30g, que foram divididos em quatro grupos distintos e receberam as seguintes denominações:

**Quadro 3** - Descrição dos grupos experimentais para o teste de Formalina 1%

<b>Grupos</b>	<b>Substâncias</b>
SALINA	Formalina 1% + Salina
INDO	Formalina 1% + Indometacina
FoEHJ 100mg/Kg	Formalina 1% + FoEHJ 100 mg/Kg
FoEHJ 250mg/Kg	Formalina 1% + FoEHJ 250 mg/Kg

Fonte: Elaborada pela autora

Após 60 min da administração do FoEHJ por via oral (100 ou 250 mg/) ou 30 min de administração de indometacina por via subcutânea (10 mg/Kg), foi administrada uma injeção sub plantar de formalina 1% na pata traseira direita, onde ocorreu a manifestação da dor química, segundo o método de Hunskaar et al. (1987). Foram observadas respostas em dois períodos: 0-5 min (primeira fase - neurogênica) e 15–30 min (segunda fase - inflamatória) após a administração da formalina (TJØLSEN et al., 1992). A resposta foi caracterizada por sacudidas rápidas e/ou mordidas e/ ou lambidas leves na pata injetada. Durante o experimento, os animais foram analisados individualmente em uma caixa espelhada para melhor quantificação dos dados.

#### 4.5.2 Avaliação de atividade anti-inflamatória

Para a realização do teste de peritonite induzida por carragenina foram utilizados 17 animais, divididos nos quatro seguintes grupos:

**Quadro 4** - Descrição dos grupos experimentais no modelo de inflamação

SALINA	Salina (controle negativo)
CG 1%	Carragenina 1% (controle positivo)
INDO 10 mg/Kg	Carragenina 1% + Indometacina 10 mg/Kg
FoEHJ 100 mg/Kg	Carragenina 1% + FoEHJ 100 mg/kg
FoEHJ 250 mg/Kg	Carragenina 1% + FoEHJ 250 mg/kg

Fonte: Elaborada pela autora

Os animais foram colocados em jejum de 4h antes da indução por carragenina. Previamente à carragenina, os grupos foram tratados com formulação (100 ou 250 mg/Kg) 60 minutos antes, via oral, ou com indometacina (10 mg/Kg), 30 minutos antes, via subcutânea. Após o período de jejum, os animais de todos os grupos receberam uma solução de carragenina 1%, injetada na cavidade peritoneal (i.p) dos ratos para indução do processo inflamatório agudo. O grupo SALINA (60 minutos, via oral) não recebeu carragenina, apenas soro fisiológico (0,9%), 4 horas antes da eutanásia.

Quatro horas após a administração da carragenina, a cavidade peritoneal foi lavada com 12mL da solução PBS contendo EDTA, massageada por 30 segundos e, em seguida, o lavado foi retirado e transferido para tubos falcons identificados. Do volume coletado, foi pipetada uma alíquota de 20 µl adicionada a 380 µl da solução TURK, para a contagem do número total de leucócitos em câmara de *Newbawer* no microscópio (FERRÁNDIZ e ALCARAZ, 1991). Os resultados foram expressos como médias do número de leucócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ) de cada grupo.

Para a contagem diferencial, foram transferidos 200 µl do lavado contido no tubo falcon para os eppendorfs e depois centrifugados 1000 rpm/5 min. O sobrenadante foi descartado e retirou-se 10 µl do concentrado de leucócitos para a confecção das lâminas. As células foram coradas com May-Grunwald-Giemsa. A contagem foi realizada através do microscópio óptico utilizando objetiva de 100X com óleo de imersão (LIMA, 2008).

## 4.6 Estatística

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão das médias e foram analisados utilizando análise de variância (ANOVA) seguida do teste *Newman-Keuls*. Todas as discussões estatísticas foram realizadas no nível de 95% de significância.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Análises qualitativas e semi-quantitativas

A composição química do material liofilizado obtido do EHJ foi revelada por meio de ensaios qualitativos e semiquantitativos (**tabela 1**). Na espécie analisada, *Jacaranda decurrens* Cham, foram detectadas fortemente a presença de Compostos fenólicos, Taninos condensados e Flavononóis; moderadamente, Flavononas; e mais fracamente, Cumarinas, Esteróides e Triterpenos.

**Tabela 1** - Constituintes químicos presentes em *Jacaranda decurrens* Cham

Metabólitos Secundários	Maceração (1:10 peso/volume)
Compostos fenólicos	+++
Cumarinas	+
Taninos Condensados	+++
Esteroides	+
Triterpenos	+
Flavononóis	+++
Flavononas	++

Fonte: Elaborado pela autora

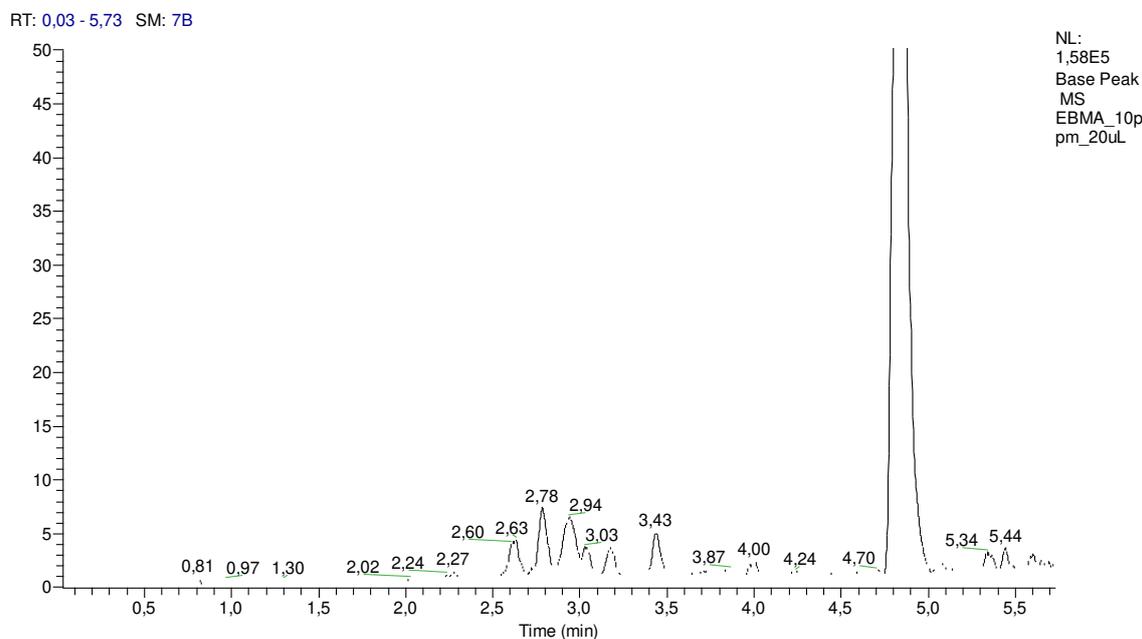
### 5.2 Análise cromatográfica

A composição do EHJ foi realizada através de análise cromatográfica acoplada a espectrômetro de massa. Foi utilizada a técnica de ionização no modo negativo, retirando um átomo de hidrogênio da molécula analisada. Ao serem detectados os fragmentos nos respectivos picos de retenção, foi consultada a base de dados MassBank para identificação dos padrões de fragmentação e identificação dos compostos.

Foram detectados compostos fortemente polares, Ácido Quínico, Rutina, Kaempferol-3-*O*-rutinosídeo, Quercetina-pentosídeo-hexosídeo, Quercetina-3-*O*-glucosídeo; fracamente polares, Kaempferol-3-*O*-raminose; apolares, Quercetina, Luteolina, Kaempferol, Ácido

Arjunólico.

**Figura 1** - Cromatograma de íon total do extrato hidroalcoólico de *Jacaranda decurrens* Cham adquirido por LC-ESI-MS (m/z: 100–1000 Da).



Fonte: Elaborado pela autora

**Tabela 2** - Identificação dos compostos de *Jacaranda decurrens* Cham por FIA-ESI-IT/MS<sup>n</sup>

Nº picos	Tempo de retenção (min)	Bandas UV (nm)	[M-H]	MS <sup>n</sup> fragmentos	Identificação dos Compostos
1	2.27	299	191	110	Ácido Quínico
2	2.63	256 (max), 356	609	447; 301	Rutina
3	2.78	262(max), 362	593	431; 285	Kaempferol-3-O-rutinosídeo
4	2.94	260(max), 358	595	433; 301	Quercetina-pentosídeo-hexosídeo
5	3.06	262(max), 356	463	301; 271; 255; 179; 151	Quercetina-3-O-glucosídeo
6	3.43	265(max), 365	431	269; 253	Kaempferol-3-O-raminose
7	4.00	256(max), 365	301	285;269	Quercetina
8	4.90	254 (max), 267	285	151; 197	Luteolina
9	5.34	262 (max), 362	285	163; 211; 227	Kaempferol
10	5.44	-	487	469;425	Acido Arjunólico

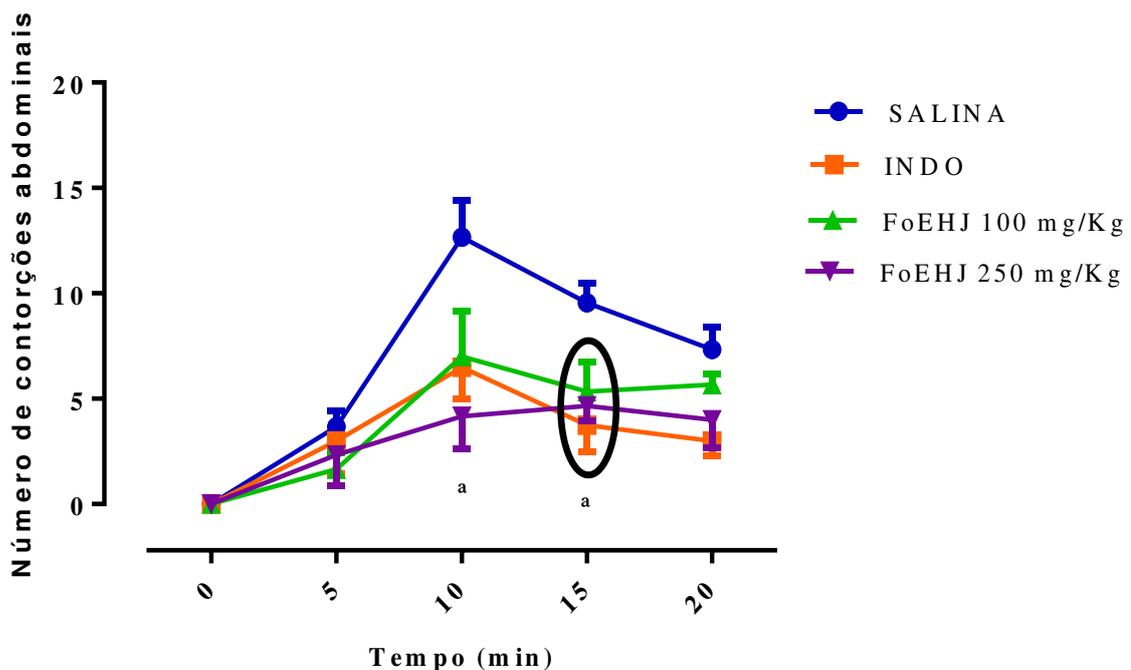
Fonte: Elaborado pela autora

### 5.3 Teste de atividade antinociceptiva

#### 5.3.1 Contorções abdominais induzidas por ácido acético 1% em camundongos

Neste teste, os animais foram avaliados durante 20 min após administração de ácido acético 1%, em quatro tempos diferentes de cinco minutos. Nos primeiros 5 min, não houve diferença estatística entre os grupos quanto à percepção de dor. No período de 5-10 min, o grupo EHJ 250 mg/Kg apresentou menor número de contorções [FoEHJ 250 mg/Kg -  $4.1 \pm 1.558$ ] comparados ao grupo salina [SALINA -  $12.6 \pm 1.740$ ], havendo diferença estatística de 67,61% (**tabela 3**). No tempo de 15 minutos, os grupos tratados com os extratos na dose de 100 mg e 250 mg diferiram do grupo salina em 44,5% e 51,88, respectivamente, e apresentaram número de contorções similares ao grupo tratado com Indometacina [SALINA -  $9.5 \pm 0.930$ , INDO -  $3.75 \pm 1.250$ , FoEHJ 100 mg/Kg -  $5.3 \pm 1.406$ , FoEHJ 250 mg/Kg -  $4.6 \pm 0.715$ ] (**Figura 2**). No tempo de 20 min., não houve diferença entre os grupos.

**Figura 2** - Número de contorções abdominais em camundongos. Grupo SALINA, INDO, e tratado com o extrato (EHJ 100 mg/Kg e EHJ 250 mg/Kg) após indução imediata da dor por ácido acético 1%.



**Tempo 10:** <sup>a</sup> FoEHJ 250 mg/Kg vs salina <sup>a</sup>p<0,05.

**Tempo 15:** <sup>a</sup> indometacina (10 mg/Kg), FoEHJ 100 mg/Kg, FoEHJ 250 mg/Kg vs salina <sup>a</sup>p<0,05

Fonte: Elaborado pela autora

**Tabela 3** - Percentual de inibição das contorções abdominais com ácido acético. Grupo controle negativo (SALINA), controle positivo (INDO), e tratado com o extrato (FoEHJ 100 mg/Kg e FoEHJ 250 mg/Kg) após indução imediata da dor por ácido acético 1%

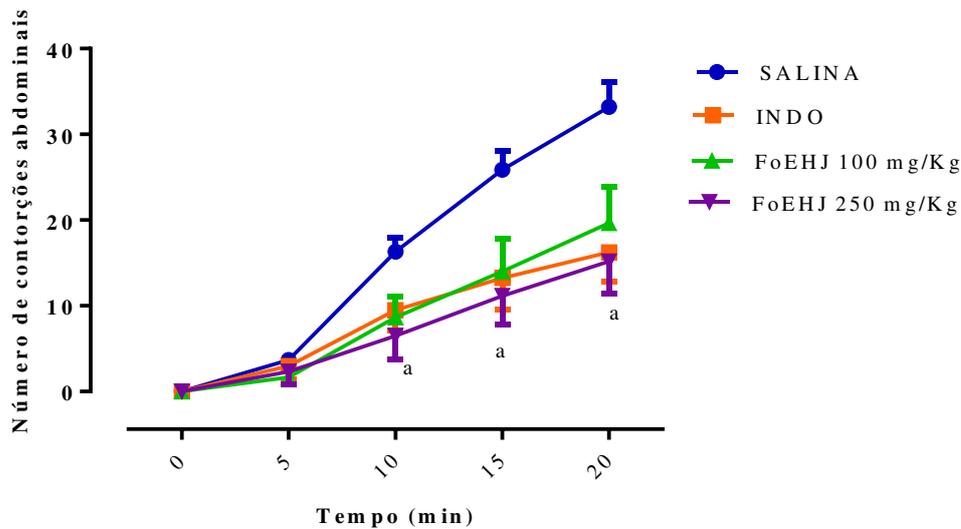
Grupos	% Inibição da contorção/ min.			
	0-5 min	5-10 min	10- 15 min	15-20 min
<b>SALINA</b>	-	-	-	-
<b>INDO</b>	18,03	48,65	<b>60,73<sup>a</sup></b>	<b>58,90<sup>a</sup></b>
<b>FoEHJ 100 mg/Kg</b>	54,64	44,70	<b>44,50<sup>a</sup></b>	23,28
<b>FoEHJ 250 mg/Kg</b>	36,33	<b>67,61<sup>a</sup></b>	<b>51,83<sup>a</sup></b>	<b>45,20<sup>a</sup></b>

<sup>a</sup>: Indometacina (10 mg/Kg), FoEHJ 100 mg/Kg, FoEHJ 250 mg/Kg vs. salina p>0,05

Fonte: Elaborado pela autora

A **Figura 3** mostra o número de contorções abdominais acumuladas no período de 20 min. Como demonstrado no gráfico, nos primeiros 5 min, inicia-se a percepção do estímulo nociceptivo, não havendo diferença estatística significativa entre os grupos tratados e o grupo controle durante esse tempo. No 10 min iniciais houve um aumento significativo na percepção dolorosa, caracterizada pelo maior número de contorções no grupo SALINA [ $16,33 \pm 1.590$ ; INDO  $9.50 \pm 2.398$ ; FoEHJ 100mg/Kg  $8.66 \pm 2.445$ ; FoEHJ 250mg/Kg  $6.50 \pm 2.766$ ]. E comparação ao grupo SALINA os camundongos tratados com FoEHJ 100 mg/Kg obtiveram redução de 53.03% no número de contorções, FoEHJ 250 mg/Kg 60,19%, e o grupo INDO reduziu 42%. Durante os 15min, o pré-tratamento com FoEHJ 100 mg/Kg, FoEHJ 250 mg/Kg ou com a INDO reduziu em 42,59% [ $14,86 \pm 3.830$ ], 56,87% [ $11.16 \pm 3.311$ ] e 48,80% [ $13.25 \pm 3.637$ ], respectivamente, o número de contorções neste período. Nos 20 min finais, percebe-se que os grupos pré- tratados com FoEHJ 100 mg/Kg, FoEHJ 250 mg/Kg ou com a INDO tiveram uma redução do número de contorções de 40,81% [ $19,66 \pm 4,193$ ], 54,36% [ $15.16 \pm 3.736$ ] e 51,08% [ $16.25 \pm 3.425$ ], respectivamente, em relação ao grupo SALINA [ $33.22 \pm 2.881$ ].

**Figura 3** - Número de contorções abdominais acumuladas, induzidas por ácido acético 1% em camundongos. Grupo SALINA, INDO, FoEHJ 100mg/Kg e FoEHJ 250mg/Kg.



<sup>a</sup>Indometacina 10mg/Kg, EHV 100mg/Kg e EHV 250 mg/Kg vs Salina,  $p < 0,05$ .

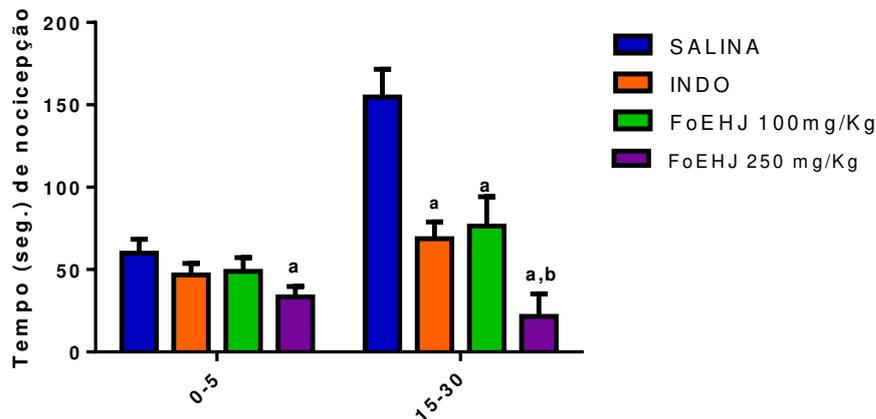
Fonte: Elaborado pela autora

### 5.3.2 Teste da formalina 1% em camundongos

Imediatamente após a aplicação da formalina para indução do estímulo nociceptivo, correspondente à análise no tempo 0 a 5 min, verificou-se que o grupo FoEHJ 250mg/Kg reduziu 44,09% a sensação dolorosa em relação ao grupo Salina [SALINA -  $59,91 \pm 8,44$  segs.] (**Figura 4**).

No segundo período de análise (15- 30 min) os grupos FoEHJ 100mg/Kg e FoEHJ 250mg/Kg apresentaram efeito dose dependente, [FoEHJ 250mg/Kg - 71,69% em relação ao FoEHJ 100mg/Kg] e entre o grupo SALINA [FoEHJ 100mg/Kg - 50,63%; EHV 250mg/Kg - 86,02%]. Observa-se também que o grupo FoEHJ 250mg/Kg apresenta redução do estímulo doloroso em 68,57% em comparação ao grupo INDO [ $68,76 \pm 10,13$  segs.] (**Tabela 4**).

**Figura 4** - Tempo (seg.) de lambidas na pata. Grupo controle negativo (SALINA), controle positivo (INDO), e tratado com o extrato (FoEHJ 100 mg/Kg, FoEHJ 250 mg/Kg) após indução imediata da dor por formalina 1%.



<sup>a</sup>indometacina, FoEHJ 100 mg/Kg, FoEHJ 250 mg/Kg vs Salina <sup>a</sup>p<0,05

<sup>b</sup>FoEHJ 250 mg/Kg vs FoEHJ 100 mg/KG <sup>b</sup>p<0,05

Fonte: elaborado pela autora

**Tabela 4** - Inibição da manifestação do estímulo nociceptivo com Formalina. SALINA, INDO, e tratado com FoEHJ 100 e 250mg/Kg após indução imediata da dor

Grupos	Tempo de manifestação da sensação nociceptiva	
	0-5 min	15-30 min
SALINA	59,91 ± 8,44	154,67 ± 16,84-
INDO	46,70 ± 7,01	<sup>a</sup> 68,76 ± 10,13
EHJ 100	48,97 ± 8,23	<sup>a</sup> 76,36 ± 17,88
EHJ 250	<sup>a</sup> 33,49 ± 6,18	<sup>a,b</sup> 21,61 ± 13,55

<sup>a</sup>indometacina, FoEHJ 100 mg/Kg, FoEHJ 250 mg/Kg vs Salina <sup>a</sup>p<0,05

<sup>b</sup>FoEHJ 250 mg/Kg vs FoEHJ 100 mg/KG <sup>b</sup>p<0,05

Fonte: elaborado pela autora

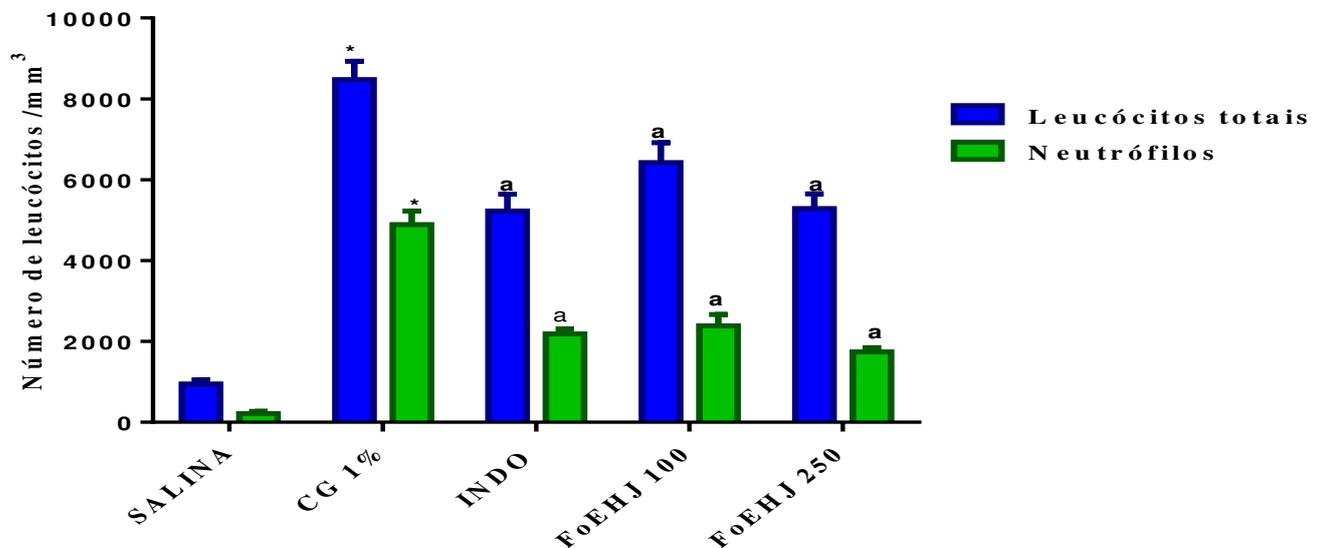
## 5.4 Teste de atividade anti-inflamatória

### 5.4.1 Peritonite induzida por carragenina 1% em ratos

Para avaliar a atividade anti-inflamatória do FoEHJ (100 e 250 mg/Kg), baseado na migração celular, foi feito o teste da peritonite induzida por carragenina (CG). Os dados analisados demonstraram que o grupo CG 1% aumentou em 8,92 vezes [ $8475 \pm 454,8/\text{mm}^3$ ] a migração celular, e proporcionalmente, em 22,4 vezes [ $4893,7/\text{mm}^3 \pm 332,6$ ] o deslocamento de polimorfonucleares para a cavidade peritoneal, em relação ao grupo Salina [ $950 \pm 97,9/\text{mm}^3$ ,  $218/\text{mm}^3 \pm 49,2$ , respectivamente], indicando que a indução da inflamação foi bem-sucedida.

Os grupos pré-tratados com o FoEHJ 100 mg/Kg e FoEHJ 250 mg/Kg frente à indução da inflamação pela carragenina, apresentaram uma redução na migração celular (contagem total de leucócitos/mm<sup>3</sup>) de 24,1% [6425 ± 481,8/mm<sup>3</sup>] e 37,6% [5290 ± 363/mm<sup>3</sup>], respectivamente, quando comparados ao grupo apenas induzido pela carragenina (CG 1%). Quanto aos neutrófilos, o pré-tratamento com o FoEHJ 100mg/Kg e FoEHJ 250mg/Kg inibiu, respectivamente, a sua migração em 51,3% e 64,47% em relação ao grupo carragenina [4893,7 ± 332,7] (**Figura 5**).

**Figura 5** - Contagem absoluta de leucócitos totais e de neutrófilos (células/ mm<sup>3</sup>) em lavado peritoneal de ratos. Grupo SALINA, carragenina 1% (CG 1%), indometacina 10mg/Kg (INDO), FoEHJ 100mg/Kg e FoEHJ 250mg/Kg após 4 horas de indução da inflamação por carragenina 1%.



\*Carragenina 1% vs Salina,  $p < 0,001$ .

<sup>a</sup>INDO 10mg/Kg, FoEHJ 100mg/Kg e FoEHJ 250 mg/Kg vs carragenina 1%,  $p < 0,001$

Fonte: Elaborado pela autora

**Tabela 5** - Contagem absoluta e percentual de neutrófilos em relação à contagem global de leucócitos, em lavado peritoneal de ratos. Grupo SALINA, CG 1%, INDO 10 mg/ Kg, FoEHJ 100mg/Kg e FoEHJ 250 mg/ Kg

Grupos	Contagem células inflamatórias no líquido peritoneal		% de inibição de migração de neutrófilos
	Leucócitos Totais	Neutrófilos	
<b>SALINA</b>	950 ± 97,8	218,5 ± 49,2	-
<b>CG1 %</b>	8475 ± 454,8	4893,7 ± 332,7*	-
<b>INDO</b>	<b>5225 ± 418,6<sup>a</sup></b>	<b>2187 ± 123,53<sup>a</sup></b>	<b>55,3%</b>
<b>FoEHJ 100mg/Kg</b>	<b>6425 ± 491,8<sup>a</sup></b>	<b>2384,1 ± 283,3<sup>a</sup></b>	<b>51,3%</b>
<b>FoEHJ 250mg/Kg</b>	<b>5290 ± 363,1<sup>a</sup></b>	<b>1738,8 ± 104,9<sup>a</sup></b>	<b>64,5%</b>

\*Carragenina 1% vs Salina, p< 0,001.

<sup>a</sup> INDO 10mg/Kg, FoEHJ 100mg/Kg e FoEHJ 250 mg/Kg vs carragenina 1%, p< 0,001

Fonte: Elaborado pela autora

## 6 DISCUSSÃO

A sensação nociceptiva ocasionada pelo processo de inflamação, por estar relacionada com a qualidade de vida e estado de integridade do organismo, torna-se relevante, principalmente pelo alto consumo de anti-inflamatórios não esteroidais, os quais trazem consigo diversos efeitos indesejáveis (BARTOULINI, 2010; BAGGIO, 2010; LOPES et al., 2011; SANTOS et al., 2012; SCHALLEMBERGER e PLETSCH, 2014). Pensando nisso, o presente estudo teve como objetivo, avaliar os efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório da formulação farmacêutica de uso oral contendo o extrato hidroalcoólico de *Jacaranda decurrens* Cham.

O efeito antinociceptivo de FoEHJ foi avaliado através do modelo de nocicepção de contorções abdominais induzidas por ácido acético 1% e do teste de Formalina 1%. Nesses modelos, os nociceptores são sensibilizados através da liberação e/ou produção de mediadores químicos inflamatórios como histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas, substância P e também produtos da lipoxigenase, e citocinas como IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-8, estimulando principalmente fibras A $\delta$  e C (KLAUMANN; WOUK e SILLAS, 2008).

De acordo com os resultados apresentados, o pré tratamento com FoEHJ 100 e 250mg/Kg reduziu o estímulo nociceptivo ocasionado pelo ácido acético, principalmente no intervalo 5–10 min, tempo em que se percebe maior sensibilidade ao agente químico, sendo que o FoEHJ 250mg continuou com o efeito antinociceptivo no intervalo de 10-15 min. Ao final dos 20 min de observação, verificou-se que a FoEHJ 250mg foi capaz de inibir o número total de contorções abdominais induzidas por ácido acético, semelhante ao grupo tratado com indometacina, indicando analgesia, comportando-se como possível antagonista aos mediadores inflamatórios (CRUVINEL et al, 2010; SÉFORA-SOUSA e ANGELIS-PEREIRA, 2013).

Para análise de atividade antinociceptiva induzida por agentes inflamatórios, foi utilizado o modelo de nocicepção induzida pela formalina. Esse modelo analisa a dor em duas fases distintas: neurogênica (estimulação direta dos nociceptores periféricos) nos primeiros 5 min após a injeção intraplantar do agente, e inflamatória (caracterizada por mediadores inflamatórios e hiperalgesia mediada pela combinação de estímulos periféricos e sensibilização da medula espinhal), ocorrendo entre 15 a 30 min (HUNSKAAR e HOLE, 1987; BARS, 2001; BAGGIO, 2010; VIERIA, 2014). No presente estudo, foi possível observar redução do estímulo doloroso no grupo que recebeu o extrato de 250mg/Kg comparado ao grupo controle e uma relação dose dependência no segundo tempo (15-30min), caracterizando um efeito anti-inflamatório do extrato.

A literatura científica destaca o potencial anti-inflamatório de *Jacaranda decurrens* Cham, visto que os mediadores envolvidos no processo de dor são os mesmos da inflamação, podendo assim correlacionar sua modulação com a ação antinociceptiva (SANTOS, 2011; DIAS, 2013; SERRA, 2017).

E, para a avaliação aprofundada da atividade anti-inflamatória adotou-se o modelo de indução de peritonite por carragenina, a qual promove migração leucocitária através da participação de neuropeptídios, óxido nítrico, dentre outros mediadores (FRANCA et al., 1980; BAGGIO, 2010; NUNES, 2012; SANTOS et al., 2012). Em nosso trabalho, verificou-se que houve aumento da migração celular, no lavado peritoneal dos animais que receberam carragenina, no tempo de 4 horas, demonstrando a efetividade desse agente ao induzir a inflamação, corroborando com os dados encontrados na literatura (SANTOS et al., 2012, DIAS, 2013; GODIN, 2014)

Os grupos tratados com FoEHJ 100 e 250 mg/Kg, frente a indução de inflamação, apresentaram redução da migração dos leucócitos totais para a cavidade peritoneal dos ratos, em 24,1% e 37,6%, respectivamente. A redução encontrada em nosso estudo foi semelhante ao estudo de Dias (2013), ao utilizar o extrato de *Jacaranda decurrens* nas doses de 30, 100 e 300mg/Kg, no modelo de edema de pata induzido por carragenina, após 2h de indução, tendo reduções significativas de 35%; 35,8% e 29,6% do edema.

Os resultados evidenciam as ações antinociceptiva e anti-inflamatório do extrato hidroalcoólico de *Jacaranda decurrens* Cham e, ao considerar as classes de metabólitos secundários encontrados no extrato das folhas deste vegetal, através da prospecção fitoquímica e análise cromatográfica, os efeitos farmacológicos observados podem ser atribuídos à presença principalmente de compostos fenólicos, flavononóis e taninos condensados (SERRA, 2017). Segundo Coutinho; Muzitano e Costa (2009), os flavonoides atuam modulando células envolvidas com a inflamação, inibindo a produção de citocinas pró inflamatórias, modulando a atividade das enzimas da via do ácido araquidônico, além de modularem a enzima formadora de NO, a óxido nítrico sintase induzida (iNOS), redução da atividade das enzimas responsáveis por metabolizar o ácido araquidônico: ciclo-oxigenase e lipo-oxigenase (COX, LOX), tendo significativa ação anti-inflamatória, (COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009; HASSAM et al, 2011).

A técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência nos mostrou a detecção de metabólitos secundários como a Rutina, Quercetina, Luteolina e Kaempferol, espécies de flavonoides, comumente descritos na literatura como potenciais agentes anti-inflamatórios (ZATTA, 2008; ARENA et al, 2012; ANTUNES et al., 2016). Rengasamy et al (2018), em seu

estudo, discorrem, principalmente, sobre a ação dos flavonoides, na resposta inflamatória, o que nos leva a sugerir nesse trabalho, mediante aos resultados encontrados, que a composição fitoquímica da *Jacaranda decurrens* Cham atua como bloqueador dos mediadores inflamatórios e diminui, conseqüentemente, a atividade nociceptiva derivada do processo inflamatório.

## 7 CONCLUSÃO

O extrato de *Jacaranda decurrens* Cham incorporado na formulação oral, diminui o estímulo nociceptivo ocasionado pelo ácido acético e pela formalina, possivelmente por ser capaz de reduzir a migração leucocitária, principalmente, neutrófilos, e conseqüentemente, a liberação de mediadores químicos inflamatórios no local da lesão que induzem hiperalgesia, apresentando assim os efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório. Entretanto, são necessários mais testes para confirmar os possíveis mecanismos de ação do extrato.

## REFERÊNCIAS

- AMORIM, R. M. F. **Estudo da atividade e mecanismo antinociceptivo da Lectina de sementes de *Lonchocarpus araripensis***. Tese (mestrado em Ciências Fisiológicas), Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2013
- ANTUNES, K. A. et al. Antiobesity effects of hydroethanolic extract of Jacaranda decurrens Leaves. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, 2016. ISSN 1741-427X.
- ARENA, A.C et al. Maternal exposure to aqueous extract of Jacaranda decurrens: Effects on reproductive system in male rats. **Pharmaceutical Biology**, 2012.
- BAGGIO, C.H. **Mecanismos de ação envolvidos na atividade antinociceptiva e anti-inflamatória da (1-3), (1-6)  $\beta$ -glucana isolada do *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel.** Tese (Doutorado em Farmacologia) - Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- BARS, D. L.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal Models of Nociception. **Pharmacology Revista**, v.53, n. 4, p. 597-652, 2001.
- BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v. 94, n.4, p.556-563, 2010.
- BEZERRA, D.K.F. **Efeito anti-inflamatório da lectina isolada de sementes de *Bauhinia bauhinioides* MART.** Tese (Mestrado em ciências fisiológicas) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2012.
- BOLETIM TÉCNICO. Métodos de Avaliação Laboratorial da Atividade Antinociceptiva e Anti-inflamatória de Produtos Naturais. Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, n. 97, p. 1-35, 2014.
- BOTREL, R. T. et al. Uso da vegetação nativa pela população local no município de Ingaí, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 143-156, 2006.
- BRAGA, F. et al. Estudo fitoquímico de *Erythraea centaurium*, *Jacaranda caroba*, *Remijia ferruginea* e *Solanum paniculatum* visando identificar marcadores químicos para o fitoterápico Ierobina®. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 28-31, 2003. ISSN 0102-695X.
- CARNEIRO, F. M. et al. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Rev Sapiê: Soc Sab Prát Educ**, v. 3, n. 2, p. 44-75, 2014.
- CARVALHO, C.A et al. Atividade antioxidante de *Jacaranda decurrens* Cham., Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2b, 2009.
- CASAGRANDE, J. C. et al. Antioxidant and cytotoxic activity of hydroethanolic extract from *Jacaranda decurrens* leaves. **PLoS One**, v. 9, n. 11, p. e112748, 2014. ISSN 1932-6203.
- COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

CRUVINEL, W. 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**, 2010.

DIAS, I. C. **Avaliação do potencial anti-inflamatório de extratos de jacaranda decurrens desenvolvidos por biotecnologia “spray drying”**. Dissertação (Trabalho de conclusão de curso), Universidade Federal da Grande Dourados, 2013.

ENDRINGER, D. C. et al. Evaluation of Brazilian plants on cancer chemoprevention targets in vitro. **Phytotherapy research**, v. 24, n. 6, p. 928-933, 2010. ISSN 0951-418X.

FEIN, A. Nociceptors and the perception of pain. **Connecticut: University of Connecticut-Health Center**, 2012.

FERRANDIZ, M.L; ALCARAZ, M.J. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. **Agent Actions**, n.32, p.283-8, 1991.

FRANCA, S.C et al. Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. **European Journal Pharmacology**, n.61, p.17-24, 1980.

FRANCHIN, M. **Avaliação do potencial anti-inflamatório e antinociceptivo da geoprópolis de Meliponas cutellaris**. Tese (Dissertação de mestrado), Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, Brasil, 2012.

FREIRE, S.M. et al. Analgesic and antiinflammatory properties of *Scoparia dulcis* L. extract and glutinol in rodents. **Phytotherapy Research**, v. 7, n.6, p.408-14, 1993.

GACHET, M. S.; SCHÜHLY, W. Jacarandá - uma revisão etnofarmacológica e fitoquímica. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, n. 1, p. 14-27, 2009.

GODIN, A.M. **Atividade do 2-ftalimidoetanol e do nitrato de 2-ftalimidoetila, análogos ftalimídicos destituídos do anel glutarimídico, em modelos experimentais de dor e inflamação**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

GUO, L. et al. Antiinflammatory and analgesic potency of carboxyamidotriazole, a tumoricidal agent. **Journal of Pharmacology Experimental Therapeutics**, v.325, p. 10-16, 2008.

HASSAN, S. W. et al. Pharmacological and toxicological properties of leaf extracts of *Kingelia africana* (bignoniaceae). **J Pharmacol Toxicol**, v. 6, n. 2, p. 124-32, 2011.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v.30, p. 103-114, 1987.

IKEDA, Y.; UENO, A.; NARABA, H.; OH-ISHI. Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanooids in the acid-induced writhing response of mice. **Life Science**, Tokyo, v.69, p. 2911-2919, 2001.

IWATA, M et al. Involvement of nitric oxide in a rat carragenina-induced pleurisy. **Mediators of inflammation**, 2010.

KIM, J.M et al. Identification of anti-inflammatory target genes of *Rhizoma coptidis* extract in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage-like cells. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 130, p. 354-362, 2010.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A.; SILLAS, T. **Patofisiologia da dor**. *Archives of Veterinary Science*, v. 13, n. 1, 2008. ISSN 1517-784X.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DE BEER, E.J. Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings*, v.18, p.412, 1959.

KRAYCHETE, D.C; CALASANS, M.T.A; VALENTE, C.M.L. Citocinas pró-inflamatórias e dor. *Revista Brasileira de Reumatologia*, Bahia, v.46, n.3, p.199-206, 2006.

LIMA, A.B. **Estudo da ação antinociceptiva e antiinflamatória do 1-nitro-2-feniletano, principal constituinte da *Aniba canelilla***. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

LOPES, M.C et al. *Cymbopogon citratus* as source of new and safe antiinflammatory drugs: Bio-guided assay using lipopolysaccharide-stimulate macrophages. *Journal Ethnopharmacology*, n. 133, p. 818-827, 2011.

MARTELLI, A.; ZAVARIZE, S. F. Vias nociceptivas da dor e seus impactos nas atividades da vida diária. *Uniciências*, v. 17, n. 1, 2015. ISSN 2178-1508.

MARTIN, F. et al. Antioxidant phenylethanoid glycosides and a neolignan from Jacaranda caucana. *Journal of natural products*, v. 72, n. 5, p. 852-856, 2009. ISSN 0163-3864.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**, edições UFC, 1997.

MIGUEL, M.; KRAYCHETE, D. C.; NASCIMENTO, R. J. M. O sistema imunológico na dor neuropática: uma revisão. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v. 11, n. 2, p. 228-233, 2012. ISSN 2236-5222.

NICHOLSON, L.B. The immune system. *Essays in biochemistry*, v. 60, n. 3, 2016.

NOGUEIRA, T.O. **Efeito antinociceptivo induzido pelo glicogênio em ratos submetidos ao modelo de pressão de pata: relação com a migração neutrofílica e a expressão da proteína S100A9**. Tese (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

NUNES, F.P.B. **Caracterização do efeito anti-inflamatório da crotoxina sobre a migração celular induzida pela carragenina**. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2012.

OGURA, M.; CORDELL, G. A.; FARNSWORTH, N. R. *Lloydia* 1977, 40, 157– 168.

OLINDA, A. C.C.; **ESTUDO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DE UM NOVO FATOR EXTRAÍDO DO VENENO DE *Crotalus durissus collilineatu***. Tese (mestrado em Ciências Fisiológicas) Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2010

OLIVEIRA, T. et al. Estudo farmacognóstico das raízes de Jacaranda decurrens Cham.(carobinha). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 13, p. 54-55, 2003. ISSN 0102-695X.

PASSERO, L. et al. Anti-leishmania activity of semi-purified fraction of Jacaranda puberula leaves. *Parasitology research*, v. 101, n. 3, p. 677-680, 2007. ISSN 0932-0113.

PEREIRA, N. C. **O EFEITO DA ARTEMISININA NO CONTROLE DA DOR NOCICEPTIVA, INFLAMATÓRIA AGUDA E NEUROPÁTICA EM RATOS.** Tese (mestrado em Neurociências e comportamento) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, Minas Gerais, 2018.

RENGASAMY, K. RR et al. O papel dos flavonóides nas doenças autoimunes: atualizações terapêuticas. **Farmacologia e terapêutica**, 2018

RIBEIRO, R.A. et al. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic in mice. **European Journal Pharmacology**, v.387, p.111-118, 2000.

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

ROBBINS, S.S.; et al. Patologia: bases patológicas das doenças. Rio de Janeiro. **Elsevier**, 8a ed., 2010.

RODRIGUES, V. E. G; CARVALHO, D. A., Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do alto Rio Grande – Minas Gerais. **Revista de Ciências agrotec.**, Lavras, v.25, n.1, p.102-123, jan./fev., 2001.

SANTOS, J. A. et al. Anti-inflammatory effects and acute toxicity of hydroethanolic extract of *Jacaranda decurrens* roots in adult male rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 144, n. 3, p. 802-805, 2012. ISSN 0378-8741.

SANTOS, J. A. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E DO EFEITO ANTIINFLAMATÓRIO DO EXTRATO HIDROETANOLICO DAS RAÍZES DE *Jacaranda decurrens* EM RATOS MACHOS.** Tese (mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal da Grande Dourados – Faculdade de Ciências da Saúde, Dourados, 2011.

SCHALLEMBERGER, J.B., PLETSCH, M.U. Riscos do uso indiscriminado de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES). **Salão do Conhecimento**, v. 2, n. 01, 2014. Disponível em: <<https://www.publicacoeseventos.unijui.edu.br/index.php/salaconhecimento/article/view/349>>. Acesso em: 23 jul 2018.

SÉFORA-SOUSA, M.; ANGELIS-PEREIRA, M. C. Mecanismos moleculares de ação anti-inflamatória e antioxidante de polifenóis de uvas e vinho tinto na aterosclerose. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 617-626, 2013.

SERRA, M. B. et al. **Efeito cicatrizante e anti-inflamatório de formulações contendo *Jacaranda decurrens* Cham.** Tese (Mestrado em Farmácia), Programa de Pós-Graduação Em Ciências Da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2017.

SHERWOOD, E.R; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v.18, n.3, p.385-405, 2004.

SILVA, A.S.B. **Avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória de *Mikania lindleyana* D.C: validação do uso popular.** Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2011.

SILVA, E.C. **Jacaranda decurrens Cham: Ensaios químicos e biológicos na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos.** Tese (Dissertação de Monografia), Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2013.

SILVA, J. C. et al. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. **Revista Brasileira de Farmácia (RBF)**, Pernambuco, v. 94, n. 1, p. 18-23, fev. 2013. Disponível em: <<http://www.rbfarma.org.br/files/rbf-2013-94-1-2.pdf>>. Acesso em: 19 dez. 2018.

TJ ØLSEN, A, BERGE, O. G., HUSKAAR, S., et al. The formalin test: na evaluation of the method. **Pain**, 1992. v. 51, p.5-17.

TRINDADE, H. Dor: mecanismos envolvidos na sua transmissão e recursos terapêuticos aplicados à sua inibição. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 7, n. 4, p. 6-18, 2013. ISSN 1809-4678.

VERGNOLLE, N. Postinflammatory visceral sensitivity and pain mechanisms. **Neurogastroenterol Motil**, vol.20, p.73-80, 2008.

VIEIRA, A.C.S. **Avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato etanólico de Púnica granatum L. (Romã).** Tese (Mestrado em Enfermagem), Programa de Pós-graduação em enfermagem, Universidade Federal de Alagoas. de Alagoas, Maceió, 2014.

WENIGER, B. et al. Antiprotozoal activities of Colombian plants. **Journal of ethnopharmacology**, v. 78, n. 2-3, p. 193-200, 2001. ISSN 0378-8741.

WOLKERSTORFER, A.; HANDLER, N.; BUSCHMANN, H. New approaches to treating pain. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 26, n. 4, p. 1103-1119, 2016. ISSN 0960-894X.

ZATTA, D. T. **Estudo farmacognóstico, avaliação da toxicidade aguda e da atividade antimicrobiana das folhas de Jacaranda decurrens Cham. – Bignoniaceae.** Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.