



Efeitos anti-inflamatório tópico e antinociceptivo do extrato etanólico de *Lychnophora pinaster* (Arnica Brasileira)

Topical anti-inflammatory effect and antinociception of *Lychnophora pinaster* (Brazilian Arnica) ethanolic extract

FERREIRA, S.A.^a; GRABE-GUIMARÃES, A.^b; ASSIS, N.A.^a; SAÚDE-GUIMARÃES, D.A.^{a,*}

^aLaboratório de Plantas Medicinais, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Campus Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.

^bLaboratório de Farmacologia Experimental, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Campus Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.

***Autor Correspondente:** Dênia Antunes Saúde-Guimarães

Escola de Farmácia, Campus Morro do Cruzeiro, UFOP, Ouro Preto, MG. | Tel.: +55 31 3559 1031 | E-mail: saude@ufop.edu.br

DOI: <https://doi.org/10.29327/226760.1.1-4>

Recebido em 28/12/2018; Aceito em 14/01/2019

Resumo

As espécies do gênero *Lychnophora*, conhecidas no Brasil como arnica, são utilizadas na medicina popular brasileira para tratar inflamação, dor, reumatismo, contusões, hematomas e picadas de insetos. Em estudos prévios o extrato etanólico de *Lychnophora pinaster* apresentou ação anti-inflamatória e antinociceptiva. No presente trabalho, o extrato etanólico das partes aéreas de *L. pinaster* foi submetido a fracionamento cromatográfico em coluna de filtração em sílica gel para obtenção das frações hexânica, diclorometânica, acetato etílico e metanólica. O efeito tópico do extrato etanólico e de suas frações, veiculados em emulgel a 5 %, foi avaliado sobre o edema de pata induzido por carragenina em camundongos Swiss. Os tratamentos com o extrato e suas frações foram capazes de reduzir significativamente o edema, sugerindo a presença de substâncias de polaridade baixa, média e alta atuando em sinergismo para o efeito anti-inflamatório do extrato. A avaliação da atividade antinociceptiva do extrato etanólico e das suas frações foi realizada em camundongos Swiss utilizando dois protocolos *in vivo*, método da placa quente e de contorções induzidas pelo ácido acético. As frações foram administradas, por gavagem, na dose de 100 mg/kg. Indometacina foi utilizada como fármaco de referência para o teste de contorções induzidas por ácido acético e morfina para o teste da placa quente. O extrato etanólico e suas frações mostraram atividade antinociceptiva pelo método de contorções induzidas por ácido acético, o que sugeriu a presença, nesta fração, de compostos com ação em nível periférico, atuando sobre a modulação da liberação de substâncias que induzem a nocicepção. O extrato etanólico e as frações acetato etílico e metanólica demonstraram atividade também pelo método da placa quente, com efeito semelhante ao exercido pela morfina. Este resultado indicou a presença no extrato de substâncias, de polaridade média a alta, que parecem atuar em nível central. Os resultados demonstraram as ações do extrato etanólico da arnica na inflamação e dor e o potencial da espécie *L. pinaster* para o tratamento destas condições. Os terpenos, flavonoides e ácidos fenólicos, isolados anteriormente de *L. pinaster*, podem ter relação com os efeitos anti-inflamatório e antinociceptivo do extrato etanólico.

Palavras chave: *Lychnophora pinaster*, emulgel, efeito anti-inflamatório, atividade antinociceptiva, contorções induzidas por ácido acético, placa quente.

Abstract

Species of the genus *Lychnophora*, known in Brazil as arnica, are used in Brazilian popular medicine to treat inflammation, rheumatism, bruises and insect bites. Previous studies showed the anti-bacterial and antinociceptive effects of *Lychnophora pinaster* ethanolic extract. In the present work, the ethanolic extract of *L. pinaster* aerial parts was subjected to a chromatographic fractionation in a gel filtration column to obtain hexane, dichloromethane, ethyl acetate and

methanolic fractions. The topical effect of the ethanolic extract and its fractions, into emulgel at 5%, was evaluated on Swiss mice paw oedema induced by carragenin. All treatments with ethanolic extract and its fractions were able to do reduce significantly the oedema, suggesting the presence of substances of low, medium and high polarity acting synergistically to the anti-inflammatory effect of the extract. Evaluation of the antinociceptive activity of ethanolic extract and its fractions were performed in mice, using hot plate and acetic acid induced contortion methods. The extract and its fractions were administered by oral route at 100 mg/kg. Indomethacin was used as reference drug for the contortions induced by acetic acid and morphine for the hot plate test. The ethanolic extract and its fractions presented antinociceptive activity observed by the contortion induced by acetic acid reduction, which suggests the peripheral effect, probably by the release modulation of the substances that induce nociception. The ethanolic extract and fractions of ethyl acetate and methanol showed effect at hot plate method, similarly to morphine. This result indicated the presence of substances of medium to high polarity, acting centrally. The results demonstrated the effects of arnica ethanolic extract to reduce inflammation and pain, as well as their potential to treat these conditions. The terpenes, flavonoids and phenolic acids of *L. pinaster* are maybe responsible for anti-inflammatory and antinociceptive effects of the ethanolic extract.

Key words: *Lychnophora pinaster*, anti-inflammatory effect, antinociceptive activity, edema, acetic acid-induced contortions, hot plate.

INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são plantas utilizadas tradicionalmente com finalidade terapêutica (BRASIL, 2006), com as quais se iniciou a produção de medicamentos e o tratamento farmacológico de doenças (SCHULZ et al., 2002). A partir delas desenvolveu-se a fitoterapia, terapêutica que utiliza estas plantas em suas diferentes formas farmacêuticas, mas sem a utilização de substâncias ativas isoladas, mesmo que essas sejam de origem vegetal (BRASIL, 2006).

O Brasil é detentor de uma enorme biodiversidade e, portanto, possui grande potencial de desenvolvimento de fitoterápicos. No entanto, a maior parte dos extratos vegetais que originam os fitoterápicos brasileiros ainda são provenientes da Europa e da Ásia (ANVISA, 2015).

A espécie *Lychnophora pinaster* Mart., conhecida popularmente como “arnica”, “arnica da serra”, “arnica brasileira”, “arnica mineira” ou “candeia”, começou a ser usada no século XVIII pelos imigrantes italianos, em substituição à variedade europeia (*Arnica Montana* L.), aqui inexistente (CERQUEIRA et al., 1987). Talvez devido à semelhança dos efeitos clínicos entre a *L.*

pinaster e a *Arnica montana*, estas sejam conhecidas vulgarmente por arnica.

A arnica brasileira, *L. pinaster* é uma espécie que apresenta diversas propriedades medicinais e crescimento arbustivo. Possui alto espectro farmacológico, apresentando atividades tripanossomicida (OLIVEIRA et al., 1996), anti-inflamatória, antinociceptiva (GUZZO et al., 2008), antimicrobiana (FARIA et al., 2009), inibidora da xantina oxidase (FERRAZ-FILHA et al., 2006), cicatrizante (BARBOSA et al., 2010), além dos usos populares em casos de inflamação, dor, reumatismo, contusões, inchaços, hematomas e traumatismos (CERQUEIRA et al., 1987, SAÚDE et al., 1998, RODRIGUES et al., 2001).

A inflamação é um mecanismo biológico que protege o corpo de possíveis danos causados por infecção ou lesão. Uma resposta inflamatória eficaz envolve o sistema imunológico e vascular e o tecido (TAAMS, 2018). O processo inflamatório é caracterizado pela liberação sequencial de vários mediadores, incluindo; aminas bioativas, eicosanóides, citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento que regulam o aumento da permeabilidade vascular e o recrutamento de leucócitos do sangue para o local do processo

inflamatório (BENEDEK et al., 2007; RODRIGUEZ-VITA and LAWRENCE, 2010;). Neutrófilos, monócitos e macrófagos estão entre as principais células que atuam na resposta inflamatória, sendo as principais fontes de mediadores pró-inflamatórios incluindo a ativação e a indução da expressão de enzimas, a produção do fator de necrose tumoral tipo alfa (TNF- α) e interleucinas (ILs). Entre as citocinas que são produzidas durante o processo inflamatório, o TNF- α juntamente com IL-1, IL-6 e IL-8 desempenham funções essenciais na amplificação da resposta inflamatória (BENEDEK et al., 2007). A inflamação também está envolvida em muitas doenças crônicas tais como as diferentes artrites inflamatórias, incluindo a gota, doença de Alzheimer, doenças cardiovasculares, doenças autoimunes e câncer (TAAMS, 2018). Assim, anti-inflamatórios são atualmente usados no tratamento de doenças inflamatórias crônicas, apesar dos seus efeitos adversos.

Os anti-inflamatórios esteroidais e os não-esteroidais (AINEs) são utilizados com a finalidade de conter e reverter o processo inflamatório seja ele local ou sistêmico (MENDES, 2001). Devido a esta toxicidade, podem ser usados durante curtos períodos, exceto nos casos muito sérios onde os riscos são aceitáveis. O uso prolongado de AINEs está associado a efeitos adversos severos, tais como a hemorragia gastrointestinal (ROBERT et al., 1979; MILLER, 1983), reações cutâneas, efeitos renais adversos, distúrbios da medula óssea e distúrbios hepáticos (CRONSTEIN and TERKELTAUB, 2006). Nem os inibidores seletivos da ciclooxigenase-2 (COX-2) parecem estar livres de riscos (MARTIN ARIAS et al., 2019). Consequentemente, há uma necessidade de desenvolver novos agentes anti-inflamatórios com efeitos adversos mínimos (VANE and BOTTING, 1987).

Segundo a Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor (SBED, 2009), a sua incidência de forma persistente chega a 40% dos indivíduos no mundo e 50% já apresentaram algum tipo de

comprometimento de suas atividades rotineiras, afetando consideravelmente sua qualidade de vida. Nocicepção é um termo aplicado aos mecanismos neurológicos que detectam um estímulo lesivo (FERREIRA, 2002). Uma vez que os animais não são capazes de verbalizar os componentes subjetivos da dor, neles não se avalia dor, mas nocicepção. Sendo assim, termos como dor e analgesia são mais adotados para humanos e nocicepção e antinocicepção para animais (JONES, 1992).

O arsenal farmacológico para o tratamento da dor é composto, basicamente, por dois grandes grupos de drogas analgésicas: os opióides, que abolem diretamente a transmissão nociceptiva no sistema nervoso central pela ligação em receptores opióides (HOSKIN & HANKS, 1991; ZADINA et al., 1997), e drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (AINEs) que previnem a sensibilização de receptores periféricos e centrais da dor inibindo a ciclooxigenase (CASHMAN, 1996).

Analgésicos opióides como a morfina, papaverina e codeína são indicados no tratamento de dores agudas, moderadas ou intensas, que não respondem a analgésicos menos potentes. Embora os opióides sejam muito efetivos, sua utilização é limitada pelo fato desses fármacos apresentarem muitos efeitos indesejados, como a constipação, náuseas, vômitos, broncoconstrição, hipotensão, bradicardia e depressão respiratória (MCQUEEN, 1983; HOSKIN and HANKS, 1991; BRUNTON, 2012).

A busca por novos analgésicos e anti-inflamatórios se faz necessária. E o estudo de plantas usadas como analgésicas e anti-inflamatórias é um caminho lógico e promissor para a pesquisa de novas substâncias (NEWMAN and CRAGG, 2016). Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos anti-inflamatório tópico e antinociceptivo do extrato etanólico e das frações de *L. pinaster* em modelos experimentais in vivo em camundongos.

METODOLOGIA

Material Vegetal

As partes aéreas de *Lychnophora pinaster* Mart. foram coletadas em março de 2007, nos campos rupestres do município de Itabirito (MG), sob autorização do IBAMA. O material botânico foi identificado pelo Dr. Júlio Antônio Lombardi (UFMG). As exsiccatas foram depositadas no Herbarium do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (BHCB/UFMG) e catalogadas com o número de registro 19.520.

As partes aéreas frescas foram deixadas em estufa ventilada, a 40° C, até a completa secagem. Posteriormente, o material vegetal foi pulverizado em moinho de facas, pesado e armazenado.

Obtenção do extrato etanólico

O material vegetal seco e triturado (2.139,0 g) foi percolado com etanol (PA) até o seu esgotamento. O solvente extrator foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotativo à temperatura não superior a 40° C para a obtenção do extrato etanólico bruto. Este extrato foi mantido sob vácuo até completa eliminação do solvente e denominado LPiEEB.

Fracionamento cromatográfico de LPiEEB

O extrato etanólico bruto (LPiEEB 62,0 g) foi submetido a cromatografia em coluna de filtração em sílica gel utilizando-se coluna cromatográfica aberta (6,5 cm de diâmetro) e como eluentes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol. Foram obtidas quatro frações: hexânica (LPiH; 0,6 g), diclorometânica (LPiD; 9,4 g), acetato etílico (LPiAcOEt; 26,0 g) e metanólica (LPiMeOH; 26,0 g).

Avaliação dos efeitos farmacológicos

Animais

Para os estudos das atividades anti-inflamatória e antinociceptiva foram utilizados camundongos *Swiss*

machos (30 ± 5 g, n = 8 por grupo) fornecidos pelo Centro de Criação Animal (CCA) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Estes animais foram mantidos em gaiolas em grupos de cinco, em sala com temperatura (22 ± 2° C) e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas) controladas e com ração e água "ad libitum". Para os experimentos na qual a administração por via oral das soluções dos extratos foi realizada por gavagem, os animais foram mantidos em jejum doze horas antes do início dos experimentos com água "ad libitum". Os protocolos experimentais foram submetidos ao Comitê de Ética do Uso de Animais (CEUA) da UFOP (protocolo nº 06/2009).

Avaliação da atividade anti-inflamatória

Preparo das soluções do extrato etanólico e frações

Para a avaliação da atividade anti-inflamatória o extrato etanólico (LPiEEB) e suas frações LPiH, LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH foram solubilizados em glicerina e etanol (PA) na proporção de 1:1 obtendo-se a concentração de 333 mg/ml.

Preparo do emulgel

Para a avaliação do efeito anti-inflamatório do extrato etanólico e frações de *L. pinaster* aplicados topicamente, foi utilizado uma formulação emulgel. Esta formulação foi preparada com a seguinte composição:

Polawax.....	4%
Natrozol.....	7%
Propilenoglicol.....	2%
Coco caprilato caprato.....	3%
Parafina líquida (óleo mineral).....	2%
Álcool estearílico.....	4%
Trietanolamina.....	q.s.
Solução conservante Nipagin/Nipazol.....	2%
Água destilada.....	q.s.p. 100g

Os componentes das fases oleosa e aquosa foram aquecidos, separadamente, em banho-maria. Após a fusão completa dos componentes da fase oleosa e o aquecimento da fase aquosa à 60°C, verteu-se a fase aquosa na oleosa e a mistura foi levada a um agitador mecânico a 500 rpm. Após o resfriamento até 40°C foi adicionado a trietanolamina. O peso foi então completado com água destilada. O extrato etanólico bruto e suas frações, na concentração de 333 mg/ml, foram incorporados em emulgel para concentrações finais de 1% e 5%.

Edema de pata induzido por carragenina

Para a avaliação da atividade anti-inflamatória foi empregado o método de edema de pata induzido pela carragenina descrito por WINTER e colaboradores (1962) com modificações. Antes de qualquer tratamento, as patas posteriores (direita e esquerda) dos animais foram mensuradas utilizando-se um paquímetro colocado da região dorsal à plantar medial de cada pata, método validado por GUZZO (2007). Um volume de 0,02 ml de carragenina (0,1% em salina 0,9%) foi aplicado na região plantar medial da pata direita posterior dos camundongos e a pata esquerda foi submetida apenas a introdução da agulha (injeção fictícia).

O extrato etanólico de partes aéreas de *L. pinaster* (LPiEEB) e suas frações (LPiH, LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH) incorporados em emulgel (0,4 g) foram administrados topicamente, logo após a injeção de carragenina ou a introdução da agulha nas patas dos animais. Dois grupos receberam medicamento padrão que apresentam o efeito anti-inflamatório tópico, a saber o diclofenaco de dietilamônio – 11,6 mg/g (Cataflam Emulgel®, Novartis) e o diclofenaco de dietilamônio (obtido da Farmácia de Manipulação Aviar – Mariana, MG) incorporado na mesma concentração no emulgel preparado (11,6 mg/g). O emulgel base sem princípio ativo, foi usado como controle do edema inflamatório induzido pela carragenina.

Para garantir o contato da formulação com o local do edema inflamatório, foram utilizados curativos de gaze e esparadrapo do tipo micropore que impediram que os animais retirassem a formulação. Após a administração da carragenina e das formulações, os animais foram mantidos em gaiolas individuais durante três horas. Após este período, correspondente ao pico máximo de formação do edema, as espessuras das patas foram novamente mensuradas. A variação da espessura da pata (edema formado) foi expressa percentualmente e calculada entre o tempo zero e três horas após a administração da carragenina.

Avaliação da atividade antinociceptiva

Preparo das soluções do extrato etanólico e frações

Para a avaliação da atividade antinociceptiva, LPiEEB e as frações LPiH, LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH foram solubilizados em DMSO, Tween 80 e água destilada na proporção de 1:1:8 e soluções foram preparadas na concentração de 10 mg/ml.

Método da placa quente

Para avaliar a atividade antinociceptiva (tempo de latência para a resposta nociceptiva) foi utilizado o método descrito por EDDY and LEIMBACK (1953), com modificações. Os animais do grupo controle receberam apenas o veículo DMSO:Tween 80: água destilada (1:1:8). Os animais dos grupos tratados receberam, por via oral por gavagem, soluções de LPiEEB ou das frações (LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH) na dose de 100 mg/kg ou o fármaco padrão morfina 10 mg/kg (1 mg/ml), por via intraperitoneal (i.p.), em solução aquosa de NaCl 0,9 %. Todos os tratamentos foram administrados 30 minutos antes da exposição à placa aquecida.

Os animais foram colocados individualmente sobre a placa aquecida por um banho-Maria a 55±1°C, tendo como meio de contenção um funil de vidro. O

tempo para que os animais apresentassem o reflexo de lambar a pata traseira foi registrado antes e 30, 60, 90 e 120 min após a administração oral do veículo, soluções do extrato, frações ou fármaco de referência. O tempo de reação do animal foi registrado com auxílio de um cronômetro e o tempo máximo de permanência do animal sobre a placa foi estimado em 45 segundos para evitar danos ao mesmo. O efeito antinociceptivo, definido como aumento do tempo de reação, foi calculado como a variação dos resultados obtidos antes e após a administração das soluções.

Método de contorções induzidas pelo ácido acético

Para avaliar a atividade antinociceptiva foi utilizado também o método descrito por KOSTER e colaboradores (1959), com modificações. O ácido acético administrado por via i.p. produz contração do músculo abdominal juntamente com estiramento das patas posteriores do animal. O número de contorções foi o parâmetro avaliado.

Os animais do grupo controle receberam apenas o veículo DMSO:Tween 80: água destilada (1:1:8). Os animais dos grupos tratados receberam, por via oral por gavagem, o extrato LPIEBB ou as soluções preparadas a partir das frações (LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH), na dose de 100 mg/kg, ou os fármacos padrão dipirona 200 mg/kg (25 mg/ml em água destilada), ou indometacina 10 mg/kg (1 mg/ml em água destilada e 0,5% de Tween 80). Todos os tratamentos foram administrados 30 minutos antes da administração i.p. do ácido acético 0,8% v/v (10 ml/kg).

As contorções foram contadas por 30 minutos, em períodos de 5 minutos, iniciando logo após a administração do ácido acético. A redução significativa do número de contorções comparada ao grupo controle foi considerada resposta antinociceptiva positiva.

Análise estatística

Os dados foram apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (e.p.m.) com $n \geq 6$ para cada grupo experimental. Os resultados foram submetidos à análise de variância (One-way ANOVA) seguida do teste de *Dunnet* para determinação de diferenças em relação aos grupos controle e tratamentos padrões. Para todas as análises foi adotado intervalo de confiança de 95%, sendo que as diferenças foram consideradas significativas quando o valor de *P* foi menor ou igual a 0,05 ($P \leq 0,05$). Todas as análises estatísticas utilizaram o Software GrafPad Prisma 5.0.

RESULTADOS

Avaliação da atividade anti-inflamatória

Na Tabela 1 estão apresentados os dados do edema de pata induzido por carragenina seguido dos tratamentos tópicos padrões com o Cataflam Emulgel® ou diclofenaco de dietilamônio incorporado em emulgel, e os tratamentos com LPiEBB, LPiH, LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH em emulgel sobre a espessura da pata dos camundongos.

A injeção de carragenina induz ao aumento agudo e progressivo do volume da pata dos animais. Este edema, que é proporcional à intensidade da resposta inflamatória, constitui-se em parâmetro útil na avaliação da atividade anti-inflamatória (PEREIRA et al., 2006). Os animais do grupo tratado apenas com emulgel base apresentaram aumento significativo na espessura da pata e aqueles do grupo submetidos a injeção fictícia não tiveram aumento significativo no volume da pata, indicando que o método foi eficiente.

Os tratamentos com os medicamentos padrões (diclofenaco), o extrato LPIEBB e as frações LPiH, LPiD, LPiAcOEt e LPiMeOH, veiculados em emulgel a 5 %, foram capazes de reduzir o edema na terceira hora após a sua indução.

Avaliação da atividade antinociceptiva

Tabela 1 - Variação percentual (%) da espessura das patas dos animais após injeção de carragenina ou introdução da agulha na pata seguido do tratamento tópico com emulgel.

Tratamento tópico	Variação da espessura das patas (%)
Injeção Fictícia	3,10 ± 0,59*
Emulgel base (edema total)	36,13 ± 1,08#
Diclofenaco (Cataflam®)	6,92 ± 0,51*
Diclofenaco (manipulado)	5,18 ± 1,02*
LPIEBB (5%)	12,35 ± 2,24*
LPIH (5%)	10,61 ± 1,53*
LPID (5%)	9,77 ± 1,28*
LPIAcOEt (5%)	17,78 ± 1,79*
LPIMeOH (5%)	7,63 ± 0,79*

Os valores representam a média ± e.p.m. em %. As medidas foram realizadas antes e 3 h depois da administração da carragenina (0,1%) em camundongos. $P < 0,05$ ANOVA seguido do teste *Dunnett*: *comparado ao grupo carragenina e tratamento com emulgel base e #comparado ao grupo injeção fictícia sem tratamento.

O presente estudo avaliou a atividade antinociceptiva do extrato etanólico e das diferentes frações em dois modelos experimentais, utilizando os métodos da placa quente e das contorções induzidas por ácido acético para a descrição das atividades central e periférica, respectivamente (VERMA et al., 2005). O baixo rendimento da fração LPIH não possibilitou a avaliação de sua atividade antinociceptiva por nenhum dos métodos usados.

A Figura 1 mostra os dados do tempo que os animais levaram para reagir ao estímulo do calor imposto pela placa quente. Foi observado que no tempo de 30 minutos, o animais que receberam o extrato LPIEBB ($5,6 \pm 1,5$ s) e a fração LPIMeOH ($5,9 \pm 1,3$ s), na dose de 100 mg/kg, apresentaram efeito significativo quando comparados ao grupo controle não tratado ($1,2 \pm 0,4$ s), resposta semelhante à morfina ($6,3 \pm 1,8$ s). Este efeito foi de duração rápida, pois não foi observado nos tempos subsequentes, sendo que nos tempos

de 1 hora e 1,5 horas o extrato e as frações não apresentaram atividade significativa. No tempo de 2 horas após o tratamento, os animais tratados com a fração LPIAcOEt ($12,1 \pm 3,6$ s) apresentaram efeito significativo no tempo de latência em reação ao calor, quando comparado ao controle ($2,8 \pm 1,0$ s), e sua atividade também foi similar ao fármaco padrão ($12,4 \pm 2,0$ s).

A Figura 2 apresenta os resultados encontrados para o extrato etanólico de *L. pinaster* e as frações avaliado no método das contorções induzidas por ácido acético. Tanto o extrato como as frações inibiram significativamente as contorções nos animais tratados quando comparados ao grupo controle não tratado.

DISCUSSÃO

A população brasileira, principalmente dos Estados de Minas Gerais, Goiás e Bahia, onde as arnicas são nativas, utilizam as partes aéreas de *L. pinaster* maceradas em álcool etílico para o tratamento tópico de inflamação, dor, reumatismos, traumatismos, contusões e picadas de insetos (CERQUEIRA et al., 1987, SAÚDE et al., 1998, RODRIGUES et al., 2001). Assim, a via tópica foi escolhida para avaliar a atividade anti-inflamatória *in vivo* do extrato etanólico (LPIEBB) e de suas frações veiculados em emulgel na concentração de 5%.

A administração tópica representa uma via alternativa da administração oral e intravenosa de ativos medicamentosos e oferece muitas vantagens como ausência de efeito de primeira passagem, liberação contínua da droga, diminuição dos efeitos adversos e melhor aceitação do paciente (GUY et al., 1987; GWAK and CHUN, 2002).

O modelo de inflamação usado neste trabalho envolve a liberação de vários mediadores que induzem a reação inflamatória em fases distintas (VINEGAR et al., 1969; DI ROSA et al., 1971a, 1971b, DI ROSA, 1972; HENRIQUES et al., 1987; SÜLEYMAN

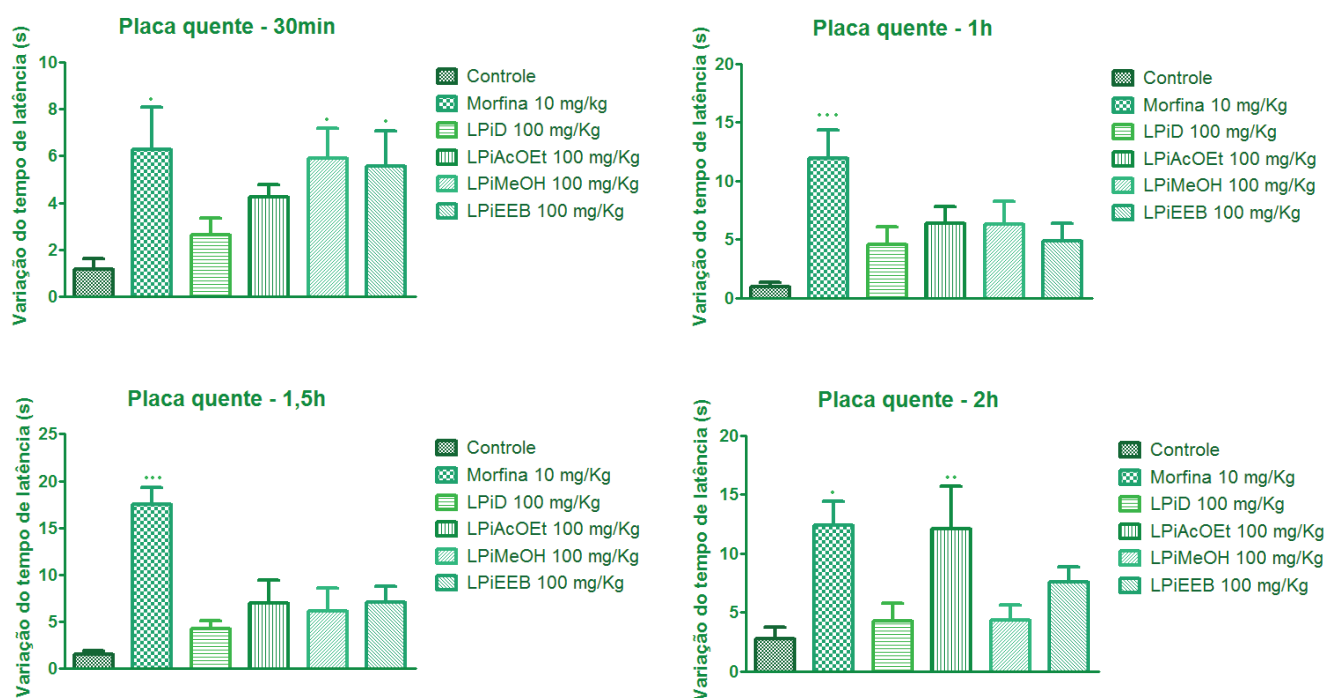


Figura 1: Efeito do extrato etanólico de *Lychophora pinaster* (LPiEEB) e das suas frações diclorometânica (LPiD), acetato etílica (LPiAcOEt) e metanólica (LPiMeOH), na dose de 100 mg/kg, sobre a variação do tempo gasto para que os camundongos lambessem a pata ou pulassem da placa aquecida, 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração dos tratamentos e do veículo. Os valores representam a média $\pm$ e.p.m. * $P \leq 0,05$ comparado ao grupo controle. ANOVA seguido de teste de *Dunnett*.

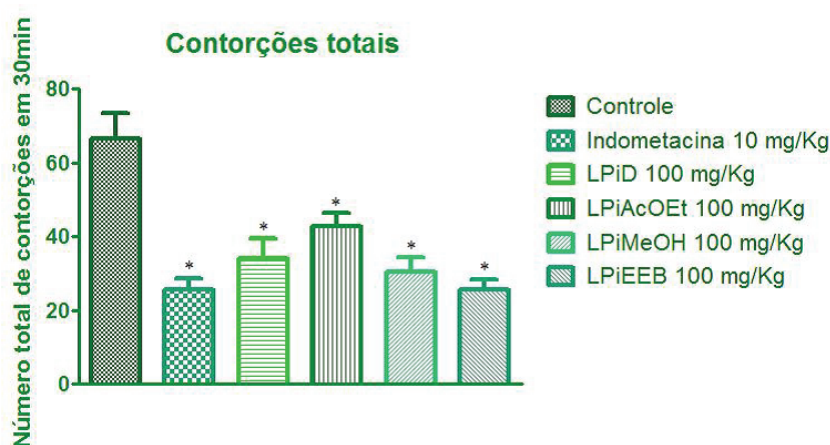


Figura 2: Efeito do extrato etanólico de *Lychophora pinaster* (LPiEEB) e das suas frações diclorometânica (LPiD), acetato etílica (LPiAcOEt) e metanólica (LPiMeOH) sobre o número total de contorções induzidas pelo ácido acético em camundongos em 30 minutos de observação. Os valores representam a média $\pm$ e.p.m. (n=8 por grupo). * $P \leq 0,05$ comparado ao grupo controle. ANOVA seguido de teste de *Dunnett*.

& BÜYÜKOKUROĞLU, 2001; MORRIS, 2003). Durante a primeira hora, o edema de pata induzido por carragenina está relacionado ao trauma da injeção. Na fase inicial (60 - 90 min) ocorre a liberação de histamina e serotonina. A fase intermediária (aumento da permeabilidade vascular) é mantida por cininas (principalmente a bradicinina produzida pela calicreína) de 90 - 150 minutos. A fase final (150 min - 6h) está correlacionada à elevada produção de prostaglandinas, produtos da ciclooxigenase, na resposta inflamatória (RONALD and CHRISTOPHER, 1990), principalmente da ciclooxigenase-2 (Cox-2) (SEIBERT et al., 1994). Nesta última fase da reação inflamatória as prostaglandinas desempenham ação principal caracterizada por hiperalgesia, migração de leucócitos e edema pronunciado, com pico entre a terceira e quarta hora (HENRIQUES et al., 1987). As cininas e as prostaglandinas são apontadas como as principais substâncias desencadeantes deste edema (VANE and BOLTING, 1995).

O diclofenaco é um anti-inflamatório não-esteroidal com baixa seletividade para a COX-2 (CRYER & FELDMAN, 1998), classicamente utilizado em modelos animais da inflamação (SÜMEN et al., 2001). No edema induzido por carragenina, a COX-1 predomina nas primeiras duas horas seguido do predomínio da COX-2 na terceira hora do estímulo (SEIBERT et al., 1994; TORIYABE et al., 2004). O diclofenaco afeta indistintamente, ambas as isoformas de COX sendo mais eficiente na modulação do edema inflamatório quando comparado às drogas seletivas da COX-2 (CAVALCANTE, 2007). Por ser um inibidor da COX, consequentemente, reduz a produção de PGs evitando a potencialização exercida pelo efeito vasodilatador destes mediadores lipídicos reduzindo, assim, o edema inflamatório (TULUNAY, 2000).

Baseado no exposto acima, o extrato etanólico de *L. pinaster* e suas frações parecem exercer o efeito antiedematogênico pela atuação sobre a produção de prostaglandinas por meio da inibição das enzimas

responsáveis pela produção das mesmas.

Das folhas, caule e flores de *L. pinaster* foram isolados hidrocarbonetos saturados, os ácidos isoclorogênico, clorogênico, caféico, cinâmico, os flavonoides quercetina, rutina, isovitexina, vitexina e pinobanksina, os terpenos ácido *E*-licnofórico, 15-desoxigoiazensolida, lupeol, misturas de α e β amirinas e friedelina, 3-*O*-acetil-lupeol, 3-*O*-acetil-pseudotaraxasterol, 3-*O*-acetil- α -amirina, 3- β -*O*-Ac, Δ^7 -baurenila e 4,4-dimetil-cholesta-22-24-dien-5-ol e os esteroides estigmasterol e β -sitosterol (ALCÂNTARA et al., 2005; SILVEIRA et al., 2005; FERREIRA et al., 2005; KELES et al., 2010; ABREU et al., 2011).

Os terpenos, flavonoides e ácidos fenólicos possuem comprovado efeito anti-inflamatório e podem contribuir para a atividade antiedematogênica apresentada pelo extrato etanólico.

Em animais, a resposta nociceptiva pode ser detectada por meio de uma reação de fuga ao estímulo nocivo. Além disto, manifestações fisiológicas de nocicepção medular ou supramedular podem ser utilizadas na avaliação de possíveis efeitos analgésicos de drogas e seus mecanismos de ação, bem como no entendimento do processo doloroso (ZIMMERMANN, 1983).

A escolha do método mais apropriado para avaliação da resposta nociceptiva é fundamental para a correta interpretação e estudo dos mecanismos envolvidos na transmissão da resposta dolorosa e dos agentes que interferem nestas vias. As características desejáveis de um método de avaliação incluem a reprodutibilidade além de não ser invasivo e permitir a quantificação do fenômeno (LE BARS et al., 2001).

Em geral, os testes algésimétricos inflamatórios são baseados na análise de respostas comportamentais desencadeadas diretamente por um processo inflamatório, como os modelos de contorção abdominal e incapacitação articular, ou que são deflagradas indiretamente por um estímulo exógeno

primário ou associado ao processo inflamatório como os testes de retirada da pata evocada por pressão ou calor (LAVICH et al., 2005).

O modelo da placa quente é um dos testes termoalgesimétricos comumente utilizados para investigação de nocicepção e analgesia em roedores. Este método foi originalmente descrito por Woolfe & Macdonald (1944). Posteriormente, foram propostas adaptações ao teste visando uniformizar e aumentar sua reprodutibilidade (EDDY and LEIMBACH, 1953). Estes autores propuseram que fossem utilizadas temperaturas entre 50 e 55° C, caracterizando melhor a resposta observada. A técnica consiste no registro temporal do início da resposta nociceptiva dos animais colocados sobre uma superfície com temperatura constante. Decorridos alguns segundos o estímulo térmico se torna aversivo e os animais reagem com um padrão consistente de comportamento. As respostas observadas incluem salto, pontapés, sapateio, sacudida da pata, lambida ou até mesmo a contenção da pata junto ao corpo. A observação de um destes comportamentos determina o final do teste. Parte da confiabilidade deste teste reside no fato de que estes comportamentos raramente são manifestados pelo animal na ausência do estímulo térmico (EDDY et al., 1950). Este teste é capaz de detectar e quantificar os efeitos analgésicos de drogas que atuam no sistema opioidérgico e as que previnem a sensibilização de nociceptores, tais como a morfina e AINEs (paracetamol e ácido acetilsalicílico).

O método de contorções induzidas por ácido acético envolve uma resposta à administração intraperitoneal desse agente nocivo, que consiste em uma onda de constrição e alongação que passa pela parede abdominal, algumas vezes acompanhada pela torção do tronco e seguida de uma extensão das patas traseiras, essa resposta foi denominada contorção abdominal (COLLIER et al., 1968).

Segundo alguns autores o efeito nociceptivo resulta

de um mecanismo envolvendo eicosanóides e aminas simpaticomiméticas (SANTOS et al., 1988). Um estudo mais aprofundado levou à demonstração de que essa ação se deve a um efeito sinérgico das citocinas TNF- α , interleucina 1 β e interleucina 8, que são produzidas por macrófagos peritoneais e mastócitos (RIBEIRO et al., 2000).

A indometacina é considerada o melhor fármaco para supressão das contorções induzidas por acetilcolina em camundongos (COLLIER et al., 1968), que possui características semelhantes ao ácido acético, no que diz respeito à geração da contorção. Por isso esse fármaco foi utilizado como referência neste teste. Esse método é considerado de triagem, uma vez que é bastante inespecífico, e permite detecção de substâncias com atividade antinociceptiva, principalmente, periférica.

Todas as frações avaliadas e o extrato etanólico apresentaram atividade significativa em relação ao controle, possuindo ação semelhante à do fármaco padrão, indometacina, e indicando um efeito antinociceptivo periférico. Um provável mecanismo para a ação antinociceptiva seria a redução da liberação de substâncias endógenas que se relacionam com o processo da dor e que são avaliadas por esse método. Que pode ocorrer devido às muitas substâncias isoladas de *L. pinaster*, terpenos (CHATURVEDI, 2011), flavonoides e ácidos fenólicos (KASSIM et al., 2010), que possuem comprovada atividade anti-inflamatória via moderação da liberação de mediadores químicos que induzem a nocicepção.

No método da placa quente o calor induz a nocicepção, que ocorre por uma interação entre as fibras C, que apresentam terminações termoceptivas e as fibras A δ , que induzem o reflexo de retirada da pata pela ativação das mesmas terminações (TAVARES, 2008).

Apesar de diversos fármacos, como sedativos e relaxantes musculares, atuarem em nível central (VAZ et al., 1996), a indometacina não apresenta atividade

nesse método (SANTOS et al., 1998), que é comumente utilizado para avaliação de analgésicos narcóticos. Por isso, o fármaco referência utilizado foi a morfina, um narcótico opióide que apresenta atividade nesse teste. A variação do tempo para que os animais apresentassem o reflexo de lamber a pata traseira ou pulassem da placa foi o parâmetro considerado neste ensaio. Como foram feitas medições aos 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração das soluções analisadas, há possibilidade de comparar o tempo de ação das diferentes frações, quando essa for significativa.

O arsenal farmacológico para o tratamento da dor é composto, basicamente, por dois grandes grupos de drogas analgésicas: os opióides, que atuam diretamente na transmissão nociceptiva do sistema nervoso central pela ligação aos receptores opióides (HOSKIN and HANKS, 1991; ZADINA et al., 1997), e drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (AINES) que previnem a sensibilização de receptores periféricos e centrais da dor inibindo a ciclooxigenase (CASHMAN, 1996).

Os opióides e as drogas anti-inflamatórias não-esteroidais, não são adequados a todos os pacientes e em todos os casos. Particularmente é na dor crônica, onde se observa suas limitações, como por exemplo, nos numerosos efeitos adversos, incluindo propensão à tolerância. Dessa forma, a pesquisa visando à descoberta de outras terapias alternativas se faz necessária. As plantas medicinais são conhecidas por serem importante fonte de novas substâncias químicas com potenciais efeitos terapêuticos. A pesquisa com plantas utilizadas tradicionalmente pela população no alívio de dores desempenha papel estratégico na busca de novas drogas analgésicas (VONGTAU et al., 2004).

Da arnica *L. pinaster* já foram isolados os flavonoides quercetina, rutina, isovitexina, vitexina e pinobanksina e os ácidos isoclorogênico, clorogênico e caféico (ALCÂNTARA et al., 2005; SILVEIRA et al., 2005; FERREIRA

et al., 2005; KELES et al., 2010; ABREU et al., 2011). Estas substâncias possuem relativa polaridade, podendo estar presentes nas frações mais polares, o que sugere que essas substâncias possam estar envolvidas na atividade antinociceptiva promovida por LPiAcOEt e LPiMeOH. Além da atividade periférica, apresentam a ação analgésica em nível central, já que as frações apresentaram resultados pelos dois métodos. Nesse sentido, outro estudo também demonstrou que a quercetina induz atividade antinociceptiva pela modulação de vias adrenérgicas (KAUR, 2005).

CONCLUSÕES

Os resultados encontrados confirmam as ações do extrato etanólico de *L. pinaster* sobre a inflamação e dor e que estas atividades podem estar relacionadas com mediadores da inflamação envolvidos na nocicepção e enzimas responsáveis pela produção de prostaglandinas responsáveis por indução de inflamação. Os terpenos, flavonoides e ácidos fenólicos podem estar relacionados com o efeito anti-inflamatório produzido pelo extrato etanólico e os flavonoides e ácidos fenólicos podem contribuir para o efeito antinociceptivo do extrato etanólico de *L. pinaster*.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não possuir nenhum conflito de interesse.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG (APQ-01355-08) pelo apoio financeiro, ao CNPq e UFOP pelas bolsas de iniciação científica de Nayara Assis e à CAPES pela bolsa de mestrado concedida a Simone Ferreira.

REFERÊNCIAS

ABREU, V. G. C.; TAKAHASHI, J. A.; DUARTE, L. P.; PILÓ-VELOSO, D.; POLICARPO, A. S.; ALVES, O. R.; ROMANHA, A. J.; ALCÂNTARA, A. F. C. Evaluation of the bactericidal and

trypanocidal activities of triterpenes isolated from the leaves, stems, and flowers of *Lychnophora pinaster*. Rev. Bras. Farm. 21:615-621, 2011.

ALCÂNTARA, A.F.C.; SILVEIRA, D.; CHIARI E.; OLIVEIRA A. B.; GUIMARÃES J. E.; RASLAN D. S. Comparative analysis of the trypanocidal activity and chemical properties of E-lychnophoric acid and its derivatives using theoretical calculations. Eclet. Quím. 30 (3):37-45, 2005.

ANVISA http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/rss?p_p_cacheability=cacheLevelFull, acesso em 12 de dezembro de 2018.

BARBOSA, L.C.O.; RASCADO, M. R.; MARCENES, C. F.; FERREIRA, J. V.; SOUZA, M. R.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A.; GRABE-GUIMARÃES, A.; SILVA-BARCELLOS, N.M. Healing activity of *Lychnophora* species (Arnica) in gel pharmaceutical form. In: XXI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2010, João Pessoa -PB. Anais do XXI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Vol. 1, 2010

BENEDEK, B.; KOPP, B.; MELZIG, M.F. *Achilea millefolium* L. S.I. – Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition. J. Ethnopharmacol., 113:312-317, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p

BRUNTON, L.L. GOODMAN & GILMAN: As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 12ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.

CASHMAN, J. N. The mechanisms of action of NSAIDs in analgesia. Drugs, 52 (5): 13-23, 1996.

CAVALCANTE, D. S. O aumento da seletividade COX-2 influencia na modulação do edema de pata de rato induzido por carragenina? Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 45 f, 2007.

CERQUEIRA, M.B.S.; SOUZA, J.T.; JÚNIOR, R.A.; PEIXOTO, A.B.F. Ação analgésica do extrato bruto aquoso liofilizado do caule e folhas de *Lychnophora ericoides* Mart. Ciência e Cultura, 39: 551-553, 1987.

CHATURVEDI, D. Sesquiterpene lactones: Structural diversity and their biological activities. In: CHATURVEDI, D. Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry. Kerala, India. p. 313-334. ISBN: 978-81-308-0448-4, 2011.

COLLIER, H.O.J.; DINNEEN, L.C.; JOHNSON, C.A.;

SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. Br. J. Pharmac. Chemother., 32:295-310, 1968.

CRONSTEIN, B. N.; TERKELTAUB, R. The inflammatory process of gout and its treatment. Arthritis Res. Ther., 8: 1-7, 2006.

CRYER, B.; FELDMAN, M. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Am. J. Med., 104(5):413-421, 1998.

DI ROSA, M.; GIROUD, J. P.; WILLOUGHBY, D. A. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. Am. J. Pathol., 104(1): 15-29, 1971a.

DI ROSA, M.; WILLOUGHBY, D. A. Screens for anti-inflammatory drugs. J. Pharm. Pharmacol., 23(4): 297-298, 1971b.

DI ROSA, M. Biological properties of carrageenan. J. Pharm. Pharmacol., 24(2): 89-102, 1972.

EDDY, N. B.; TOUCHBERRY, C. F.; LIEBERMAN, J. E. Synthetic analgesics I. Methadone isomers and derivatives. J. Pharmacol. Exp. Ther., 98(2): 121-137, 1950.

EDDY, N. B.; LEIMBACH, D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. J. Pharmacol. Exp. Ther., 107:385-393, 1953.

FARIA, I.J.S.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A.; SOUZA, J. Estudos comparativos entre a atividade antimicrobiana de extratos de espécies do gênero *Lychnophora* e a própolis. In: XVII Seminário de Iniciação Científica da UFOP, Ouro Preto. Anais do XVII Seminário de Iniciação Científica da UFOP, Vol. 1. p. 1-1. 2009

FERRAZ FILHA, Z.S.; VITOLO, I.F.; FIETTO, L.G.; LOMBARDI, J.A.; SAÚDE-GUIMARÃES, D.A. Xanthine oxidase inhibitory activity of *Lychnophora* species from Brazil. J. Ethnopharmacol., 107 (1):79-82, 2006.

FERREIRA, S. H. Entre a compreensão e a confusão: alodínia e hiperalgesia. Dor on line Disponível em <<http://www.dol.inf.br/html/EditoriaisAnteriores/Editorial31.html>> 2002. Acesso em 02 de outubro de 2009.

FERREIRA, A.A.; AZEVEDO, A.O.; SILVEIRA, D.; OLIVEIRA, P.M.; CASTRO, M.S.; RASLAN, D.S. 2005. Constituents of *Lychnophora pinaster* hydroalcoholic extract. Chem. Nat. Compd. 41, 466-466.

GUY R.H.; HADGRAFT J.; BUCKS D.A. Transdermal drug delivery and cutaneous metabolism. Xenobiotica, 17(3):325-43, 1987.

- GUZZO, L. S. Avaliação de atividades farmacológicas de diferentes espécies de *Lychnophora* utilizadas pela população. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 99 f, 2007.
- GUZZO, L. S.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A.; SILVA, A.C.A.; LOMBARDI, J. A.; GUIMARÃES, A. G. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of ethanolic extracts of *Lychnophora* species. *J. Ethnopharmacol.*, 116:120-124, 2008.
- GWAK, H. S.; CHUN, I. K. Effect of vehicles and penetration enhancers on the *in vitro* percutaneous absorption of tenoxicam through hairless mouse skin. *Int. J. Pharm.*, 236(1-2):57-64, 2002.
- HENRIQUES, M. G. M. O.; SILVA, P. M. R.; MARTINS, M. A.; FLORES, C. A.; CUNHA, F. Q.; ASSREUY-FILHO, J.; CORDEIRO, R. S. B. Mouse paw edema: A new model for inflammation? *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 20:243-249, 1987.
- HOSKIN, P. J.; HANKS, G. W. Opioid agonist-antagonist drugs in acute and chronic pain states. *Drugs*, 41(3):326-344, 1991.
- JONES, S. L. Anatomy of pain. In: SINATRA, R. S.; HORD, A. H.; GINSBERG, B.; PREBLE, L. M. (Eds.) *Acute Pain: Mechanisms & Management*. St. Louis: Mosby-Year Book, cap. 2, p. 8-28, 1992.
- KASSIM, M.; ACHOUI, M.; MUSTAFA, M. R.; MOHD, M. A.; YUSOFF, K. M. Ellagic acid, phenolic acids, and flavonoids in Malaysian honey extracts demonstrate *in vitro* anti-inflammatory activity. *Nutr. Res.*, 30:p. 650-659, 2010.
- KAUR, R.; SINGH, D.; CHOPRA, K. Participation of α_2 receptors in the antinociceptive activity of quercetin. *J. Med. Food*, 8(4):529-532, 2005.
- Keles, L.C., Melo, N.I., Aguiar, G. P., Wakabayashi, K. A. L., Carvalho, C. E., Cunha, W. R., Crotti, A. E. M. 2010. *Lychnophorinae* (Asteraceae): a survey of its chemical constituents and biological activities. *Quím. Nov.* 33, 2245-2260.
- Koster, R., Anderson, M., Beer, E.J. Acetic acid for analgesic screening. *Federal Proc.*, 18:412-417, 1959.
- LAVICH, T. R.; CORDEIRO, R. S. B.; SILVA, P. M. R.; MARTINS, M. A. A novel hot-plate test sensitive to hyperalgesic stimuli and non-opioid analgesics. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 38(3):445-451, 2005.
- LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal models of nociception. *Pharmacol. Rev.*, 53(4):597-652, 2001.
- MARTÍN ARIAS L.H.; MARTÍN GONZÁLEZ A.; SANZ FADRIQUE R.; VAZQUEZ E.S. Cardiovascular Risk of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs and Classical and Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors: A Meta-analysis of Observational Studies. *J. Clin. Pharmacol.*, 59(1):55-73, 2019.
- McQUEEN, D. S. Opioid peptide interactions with respiratory and circulatory systems. *Br. Med. Bull.*, 39(1):77-82, 1983.
- MENDES, A. Avaliação em larga escala do diclofenaco colestiramina em lesões traumáticas agudas. *Rev. Bras. Med.*, 58(4):249-256, 2001.
- MILLER, T. A. Protective effects of prostaglandins against gastric mucosal damage: current knowledge and proposed mechanisms. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 245(5):601-623, 1983.
- MORRIS, C. J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol. Biol.*, 225:115-121, 2003.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.*, 79(3):629-661, 2016.
- OLIVEIRA, A. B.; SAÚDE, D. A.; PERRY, K. S. P.; DUARTE, D. S.; RASLAN, D. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Trypanocidal sesquiterpenes from *Lychnophora* species. *Phytother. Res.* 10:292-295, 1996.
- PEREIRA, H. L. A.; RIBEIRO, S. L. E.; CICONELLI, R. M. Tratamento com antiinflamatórios tópicos na osteoartrite de joelho. *Rev. Bras. Reumatol.*, 46(3):188-193, 2006.
- RIBEIRO, R.A.; VALE, M.L.; THOMAZZI, S.M.; PASCHOLATO, A.B.P.; POOLE, S.; FERREIRA, S.H.; CUNHA, F.Q. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 387:111-118, 2000.
- ROBERT, A.; HANCHAR, A. J.; LANCASTER, C.; NEZAMIS, J. E. Prostacyclin inhibits enteropooling and diarrhea. In: Vane, J. R.; Bergström, S. (Eds.), *Prostacyclin*. New York: Raven Press, p. 147-158, 1979.
- RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Plantas medicinais no domínio dos cerrados. Lavras: UFLA, 180 p. 2001.
- RODRIGUEZ-VITA, J.; LAWRENCE, T. The resolution of inflammation and cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 21:61-65, 2010.
- RONALD M.B.; CHRISTOPHER D.H. A bradykinin antagonist inhibits carrageenan oedema in rats. *Arch. Pharmacol.*, 342:189-193, 1990.
- SANTOS, A.R.S.; VEDANA, E.M.A.; DE FREITAS, G.A.G.

- Antinociceptive effect of meloxicam, in neurogenic and inflammatory nociceptive models in mice. *Inflamm. Res.*, 47:302–307, 1998.
- SAÚDE, D. A.; RASLAN, D. S.; SOUZA FILHO, J. D.; OLIVEIRA, A. B. Constituents from the aerial parts of *Lychnophora trichocarpa*. *Fitoterapia*, LXIX (1):90–91, 1998.
- SBED – Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor. Disponível em <http://www.dor.org.br/dor_impactos.asp>. Acesso em 27 de setembro de 2009.
- SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V.E. *Fitoterapia racional: um guia de fitoterapia para as ciências da saúde*. 1ed. Barueri: Manole. p. 1 – 2, 2002.
- SEIBERT, K.; ZHANG, Y.; LEAHY, K.; HAUSER, S.; MASFERRER, J.; PERKINS, W.; LEE, L.; ISAKSON, P. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 91(25):12013–12017, 1994.
- SILVEIRA, D., SOUZA FILHO, D.J., OLIVEIRA, A.B., RASLAN, D.S. Lychnophoric acid from *Lychnophora pinaster*: a complete and unequivocal assignment by NMR spectroscopy. *Eclet. Quím.* 30: 37–41, 2005.
- TAVARES, J.A.W. Avaliação da atividade antinociceptiva do extrato bruto, das frações e dos compostos obtidos de *Geissospermum vellosii*. Dissertação de mestrado. Santa Maria, RS, 2008.
- TORIYABE, M.; OMOTE, K.; KAWAMATA, T.; NAMIKI, A. Contribution of interaction between nitric oxide and cyclooxygenases to the production of prostaglandins in carrageenan-induced inflammation. *Anesthesiology*, 101(4):983–390, 2004.
- SANTOS, A.R.S.; VEDANA, E.M.A.; DE FREITAS, G.A.G. Antinociceptive effect of meloxicam, in neurogenic and inflammatory nociceptive models in mice. *Inflamm. Res.*, 47:302–307, 1998.
- SÜLEYMAN, H.; BÜYÜKOKUROĞLU, M. E. The Effects of Newly Synthesized Pyrazole Derivatives on Formaldehyde-, Carrageenan-, and Dextran- Induced acute paw edema in rats. *Biol. Pharm. Bull.*, 24(10):1133–1136, 2001.
- SÜMEN, G.; CIMSIT, M.; EROGLU, L. Hyperbaric oxygen treatment reduces carrageenan-induced acute inflammation in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 431(2):265–268, 2001.
- TAAMS, L. S. Inflammation and immune resolution. *Clin. Exp. Immunol.*, 193:1–2, 2018.
- TULUNAY, F. C. NSAIDs: behind the mechanisms of action. *Funct. Neurol.*, 15(suppl. 3):202–207, 2000.
- VANE, J.; BOTTING, R. Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *FASEB J.*, 1:89–96, 1987.
- VANE, J. R.; BOLTING, R. M. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflamm. Res.*, 44(1):1–10, 1995.
- VAZ, Z.R.; et al. Antinociceptive action of 2-(4-bromobenzoyl)-3-methyl-4,6-dimethoxybenzofuran, a novel xanthoxylene derivative, on chemical and thermal models of nociception in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 278:304–312, 1996.
- VERMA, P.R.; JOHARAPURKAR, A.A.; CHATPALLIWAR, V.A.; ASNANI, A.J. Antinociceptive activity of alcoholic extract of *Hemidesmus indicus* R.Br. in mice. *J. Ethnopharmacol.*, 102:298–301, 2005.
- VINEGAR, R.; SCHREIBER, W.; HUGO, R. Biphasic development of carrageenin edema in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 166(1):96–103, 1969.
- VONGTAU, H. O.; ABBAH, J.; MOSUGU, O.; CHINDO, B. A.; NGAZAL, I. E.; SALAWU, A. O.; KWANASHIE, H. O.; GAMANIEL, K. S. Antinociceptive profile of the methanolic extract of *Neorautanenia mitis* root in rats and mice. *J. Ethnopharmacol.*, 92(2–3):317–324, 2004.
- WINTER, C.A.; RISLEY, E.A.; NUSS, G.W. Carrageenan-induced oedema in hind paw of the rats as an assay for anti-inflammatory drugs. In: *Exp. Biol. Med.*, 111:544–547, 1962.
- WOOLFE, G.; MacDONALD, A. D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (DEMEROL). *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 80(3):300–307, 1944.
- ZADINA, J. E.; HACKLER, L.; GE, L. J.; KASTIN, A. J. A potent and selective endogenous agonist for the μ -opiate receptor. *Nature*, 386: 499–502, 1997.
- ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, 16(2):109–110, 1983.