



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS**

ANDREW MAIROM NOGUEIRA PEREIRA

**ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L.**

**SANTARÉM- PA
2019**

ANDREW MAIROM NOGUEIRA PEREIRA

**ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências da Universidade Federal do Oeste do Pará, como requisito para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Waldiney Pires Moraes

**SANTARÉM- PA
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado Bibliotecas – SIBI/UFOPA

- P436a Pereira, Andrew Mairon Nogueira
Atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo essencial de *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L / Andrew Mairon Nogueira Pereira. – Santarém : UFOPA, 2019.
61 f.: il.
Inclui bibliografias.
- Orientador: Waldiney Pires Moraes
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Pró-Reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação Tecnológica, Programa de Pós-Graduação Biociências.
1. Priprioca. 2. Inflamação. 3. Nocicepção. I. Moraes, Waldiney Pires, orient. II. Título.

CDD: 23 ed. 615.321

ANDREW MAIROM NOGUEIRA PEREIRA

**ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L.**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Biociências, da Universidade Federal do Oeste do Pará, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre.

Aprovado em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Waldiney Pires Moraes (Orientador)
Universidade federal do Oeste do Pará

Prof. Dr. Josafá Gonçalves Barreto
Universidade federal do Oeste do Pará

Prof. Dr. Tânia Mara Pires Moraes
Universidade federal do Oeste do Pará

AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar.

Aos meus pais e minha avó, por terem apoiado minhas decisões em todos os momentos da minha vida. Amo muito vocês.

A minha irmã, Luziane agradeço por ter sido sempre presente quando necessitei.

Aos meus irmãos por todo incentivo que recebi e também a momentos de lazer e descontração que me proporcionaram.

A minha namorada pela dedicação, companheirismo, generosidade, humildade e pelo enorme apoio em vários experimentos. A pessoa que me faz feliz todos os dias.

Aos amigos, Adriano, John, Éden, José Junior, Odelizan, Welington, Cassiano, Arimar pelo companheirismo e enorme apoio nos experimentos, sempre dispostos a ajudar.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Waldiney Pires Moraes, que me acolheu e foi referência de pesquisador e toda a equipe no laboratório de Farmacologia da Universidade Federal do Oeste do Pará, onde foi desenvolvida a pesquisa.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para construção desta pesquisa.

Muito obrigado!

RESUMO

A biodiversidade das espécies de plantas encontradas na Amazônia faz dela uma importante fonte na descoberta de novos medicamentos, dentre as espécies encontra-se a *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L. (Priprioca). Estudo fitoquímico realizado no óleo essencial identificou-se a presença de compostos terpênicos. Considerando os compostos químicos presente no óleo essencial de *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L. (OECA) e a aplicação etnofarmacológica, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo essencial de *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L. em modelos experimentais de inflamação e nocicepção em ratos e camundongos. O material botânico foi cedido pelo Laboratório de pesquisa e desenvolvimento de produtos naturais bioativos da UFOPA, o qual foi coletado na região do Tabocal no município de Santarém-PA, identificada pelo Dr. Antônio Elielson Sousa da Rocha. A caracterização química da amostra foi realizada no centro pluridisciplinar de pesquisas químicas, biológicas e agrícolas da UNICAMP-SP. A avaliação da toxicidade oral aguda foi avaliada de acordo com o protocolo da OECD 423/2001. A atividade antinociceptiva seguiu os protocolos dos testes de Placa quente, Contorção abdominal e Formalina. A atividade anti-inflamatória foi avaliada com os testes de Bolsa de ar e Azul de Evanz. De acordo com os resultados obtidos, a análise da composição química indicou a presença de monoterpenos, sesquiterpenos e cetonas sesquiterpênicas como constituintes majoritários do OECA, a dose segura é inferior a 2.000 mg/kg administrada via oral, apresentou atividade antinociceptiva aumentando o limiar da dor induzida por substâncias químicas (ácido acético e formalina) e estímulo térmico. Também foi observado atividade anti-inflamatória diminuindo o volume de exsudato no sítio inflamado em consequência da diminuição da permeabilidade vascular observado no teste de bolsa de ar e Azul de Evanz. O efeito anti-inflamatório foi observado também na redução da migração de leucócitos no teste de bolsa de ar. A partir dos resultados obtidos, concluímos que o óleo essencial de *Cyperus articulatus* L. var. *nodosus*, é constituído, principalmente, de sesquiterpenos e monoterpenos. A dose segura é inferior a 2.000 mg/kg administrada via oral. O OECA apresenta atividade antinociceptiva aumentando o limiar da dor induzida por substâncias químicas (ácido acético e formalina) e estímulo térmico. Apresentou atividade anti-inflamatória diminuindo o volume de exsudato no sítio inflamado em consequência da diminuição da permeabilidade vascular observado no teste de bolsa de ar e Azul de Evanz. O efeito anti-inflamatório foi observado também na diminuição de migração de leucócitos no teste de bolsa de ar.

Palavras chave: Inflamação, nocicepção, *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L. e priprioca.

ABSTRACT

The *Cyperus articulatus var. nodosus* L. (Priprioça) is a plant found in the Amazon region due to the biodiversity of plant species in this place and has become important source in the discovery of new drugs. Phytochemical studies carried out on essential oil have been identified from terpene compounds. Based on the presence of the compounds present in *Cyperus articulatus var. nodosus* L. grows the hypothesis of having anti-inflammatory and antinociceptive activity. Phytochemical study on essential oil identified the presence of terpene compounds. Considering the chemical compounds present in the essential oil of *Cyperus articulatus var. nodosus* (OECA) and ethnopharmacological application, the objective of the research was to evaluate the anti-inflammatory and antinociceptive activity of the essential oil of *Cyperus articulatus var. nodosus* in experimental models of inflammation and nociception in rats and mice. The botanical material was provided by the Research and Development Laboratory of bioactive natural products of UFOPA, which was collected in Tabocal region in the municipality of Santarém-PA, identified by Dr. Antônio Elielson Sousa da Rocha. The chemical characterization of the sample was carried out at the multidisciplinary center for chemical, biological and agricultural research of UNICAMP-SP. The assessment of acute oral toxicity was assessed according to OECD protocol 423/2001. The antinociceptive activity has followed the protocols of the Hot Plate, Abdominal Contortion and Formalin tests. The anti-inflammatory activity was evaluated with the Airbag and Evan's Blue tests. The chemical composition analysis indicated the presence of monoterpenes, sesquiterpenes and sesquiterpene ketones as major constituents of OECA. The safe dose is less than 2,000 mg / kg administered orally. It presents antinociceptive activity increasing the pain threshold induced by chemical substances (acetic acid and formalin) and thermal stimulation. Anti-inflammatory activity is observed, decreasing the exudate volume at the inflamed site as a consequence of the decrease in vascular permeability observed in the air bag and Evan's Blue test. The anti-inflammatory effect was also observed in the reduction of leukocyte migration in the air bag test. From the results obtained, we conclude that the essential oil of *Cyperus articulatus* L. var. *nodosus*, consists mainly of sesquiterpenes and monoterpenes. The safe dose is less than 2,000 mg / kg administered orally. OECA has antinociceptive activity increasing the pain threshold induced by chemical substances (acetic acid and formalin) and thermal stimulation. It presented anti-inflammatory activity, decreasing the exudate volume at the inflamed site as a consequence of the decrease in vascular permeability observed in the air bag and Evan's Blue test. The anti-inflammatory effect was also observed in the decrease of leukocyte migration in the air bag test.

Key words: Inflammation, nociception, *Cyperus articulatus var. nodosus* and priprioça.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tipos de fibras e suas propriedades na condução do estímulo nociceptivo	20
Tabela 2: Atividades farmacológicas de componentes químicos presentes em amostras de óleo essencial.	23
Tabela 3: Atividades farmacológicas da <i>Cyperus articulatus</i>	27
Tabela 4: Composição química do óleo essencial dos rizomas da <i>Cyperus articulatus</i> var. <i>nodosus</i> L.....	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Via de ativação do NF-kB na resposta inflamatória.....	11
Figura 2: Migração de Leucócitos–as fases de rolamento, adesão, transmigração e migração.	13
Figura 3: Circuito do processo nociceptivo.....	19
Figura 4: Tipos de fibras nervosas responsáveis pela transmissão de estímulos.	20
Figura 5: Plantio de Priprioca.	26
Figura 6: Rizomas da Priprioca.....	26
Figura 7: Fluxograma do teste de toxicidade conforme o protocolo OECD.....	32

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Efeito do OECA (2.000 mg/kg) sobre massa corporal, os gráficos A, B e C a esquerda correspondem aos 0, 7° e 14° dia em que foi pesado os camundongos. Os gráficos A, B e C a direita correspondem aos 0, 7° e 14° dia em que foi pesado os ratos durante 14 dias de observação no teste de toxicidade oral aguda. Cada coluna representa média \pm DP (n=3), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo tratado com OECA (2.000 mg/kg) e o grupo controle. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls. 37

Gráfico 2: Efeito do OECA sobre a nocicepção induzida por estímulo térmico. Cada ponto representa média \pm DP. (n=5), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls. 38

Gráfico 3: Efeito do OECA (10, 100 e 400 mg/kg v.o) e da Indometacina (5 mg/kg v.o) sobre a nocicepção induzida por ácido acético. Cada coluna representa média \pm DP (n=5), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls. 39

Gráfico 4: Efeito do OECA (10, 100 e 400 mg/kg v.o) e Morfina (10 mg/kg i.p) sobre a nocicepção induzida por formalina 2,5% na 1ª fase do teste de formalina. Cada coluna representa média \pm DP (n=5). *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls. 40

Gráfico 5: Efeito do OECA (10, 100 e 400 mg/kg v.o) e Morfina (10 mg/kg i.p) sobre a nocicepção induzida por formalina 2,5% na 2ª fase do teste de formalina. Cada coluna representa média \pm DP (n=5). *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls. 40

Gráfico 6: Efeito da naloxona sobre a ação antinociceptiva do OECA (400 mg/kg v.o) e da Morfina (10 mg/kg i.p) na 1ª fase do teste de formalina. Cada coluna representa média \pm DP, (n=5). *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o

grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.41

Gráfico 7: Efeito da naloxona sobre a ação antinociceptiva do OECA (400 mg/kg v.o) e da Morfina (10 mg/kg i.p) na 2ª fase do teste de formalina. Cada coluna representa média \pm DP, (n=5). *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.41

Gráfico 8: Efeito do OECA e Dexametasona (0,6 mg/kg v.o) sobre a migração de leucócitos para o sítio inflamatório induzido por carragenina 1%. Cada coluna representa média \pm DP. (n=5), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.42

Gráfico 9: Efeito do OECA e Dexametasona sobre a permeabilidade vascular induzida por carragenina. Cada coluna representa média \pm DP. (n=5), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.43

Gráfico 10: Efeito do OECA e Indometacina sobre a permeabilidade vascular induzida por ácido acético. Cada coluna representa média \pm DP. (n=5), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ## indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.43

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	Ácido araquidônico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AINE	Anti-inflamatório não esteroidal
CEUA	Comissão de ética em uso de animal
COX-1	Ciclooxigenase1
COX-2	Ciclooxigenase2
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
EROs	Espécies reativas de oxigênio
G-CSF	Fator de estimulação de colônias granulocíticas
h	hora
HETE	hidroxieicosatetraenóicos
HPETE	hidroperoxieicosatetraenóicos
i.p.	intraperitoneal
IFN- γ	interferon- γ
IL-1 β	interleucina1 β
IL-6	interleucina6
iNOS	óxido nítrico sintase induzida
kg	kilograma
LOX	lipoxigenase
LT	leucotrienos
MAP3Ks	proteína quinase ativada por mitógeno 3
MAPK	proteína quinase ativada por mitógeno
Mg	miligrama
ml	mililitro
NF κ B	Fator de transcrição nuclear kappa B
NO	óxido nítrico
°C	graus Celsius
OMS	Organização mundial da saúde
OECA	óleo essencial de <i>Cyperusarticulatus</i>
p38	via pró-inflamatória 38
PAF	fator ativador de plaquetas
PGD ₂	prostaglandina D2
PGE ₂	prostaglandinas tipo 2
PGs	prostaglandinas
PLA2	fosfolipase A2
S	segundo
TNF- α	fator de necrose tumoral- α
TX	tromboxanos
v.o.	via oral
μ g	micrograma
μ L	microlitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	Fisiopatologia do processo inflamatório	9
1.1.1	Mediadores inflamatórios.....	12
1.2	Nocicepção e dor.....	17
1.2.1	Transmissão da dor.....	20
1.2.2	Modulação da dor.....	21
1.2.3	Mediadores da dor	21
1.3	Plantas medicinais	22
1.3.1	Família Cyperaceae	24
2	JUSTIFICATIVA.....	28
3	OBJETIVOS	29
3.1	Geral.....	29
3.2	Específicos	29
4	MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1	Coleta do material botânico.....	30
4.2	Extração do OECA.....	30
4.3	Análise cromatográfica	30
4.4	Animais	31
4.5	Drogas e soluções.....	31
4.6	Planejamento experimental	31
4.7	Toxicidade oral aguda	32
4.8	Avaliação da atividade antinociceptiva.....	33
4.8.1	Teste de placa quente	33
4.8.2	Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético	33
4.8.3	Teste de Formalina	33
4.9	Avaliação da atividade anti-inflamatória	34
4.9.1	Teste de bolsa de ar	34
4.9.2	Teste de azul de Evanz	34
4.10	Análise estatística.....	35
5	RESULTADOS.....	36
5.1	Composição química do OECA	36
5.2	Ensaio de toxicidade do OECA.....	37
5.3	Estudo da atividade antinociceptiva.....	38

5.3.1	Teste de placa quente	38
5.3.2	Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético	39
5.3.3	Teste de Formalina	39
5.3.4	Teste de Formalina (Antagonista opioide naloxona).....	41
5.4	Estudo da atividade anti-inflamatória.....	42
5.4.1	Teste de bolsa de ar (migração de leucócitos).....	42
5.4.2	Teste de bolsa de ar (permeabilidade vascular).....	42
5.4.3	Teste de azul de Evanz (permeabilidade vascular).....	43
6	DISCUSSÃO.....	44
7	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
	ANEXO I - Certificado do Comitê de Ética no uso de animais – UFOPA.....	62

1 INTRODUÇÃO

1.1 Fisiopatologia do processo inflamatório

O processo inflamatório se faz presente no curso de várias patologias, como as contusões, tendinites, infecções respiratórias, asma, doenças autoimunes dentre outras enfermidades. A resposta inflamatória pode ter ação restrita a um determinado tecido ou ocorrer de maneira sistêmica. O início do processo inflamatório é desencadeado por diferentes fatores como agentes físicos (trauma, queimadura, radiação), agentes químicos (substâncias irritantes), ou agentes biológicos (bactérias, fungos, vírus e parasitas) (CHANDRASEKHARAN; SHAMA-WALIA, 2015; NASCIMENTO et al., 2015).

A primeira caracterização do processo inflamatório foi em 30 a.C pelo médico romano Aulus Cornélius Celsus que descreveu quatro sinais cardinais da inflamação: calor, rubor, edema e a dor. Posteriormente, o pesquisador Cláudio Galeno acrescentou a perda de função aos quatro sinais cardinais descritos inicialmente. A resposta inflamatória é deflagrada na perspectiva de eliminarem o agente agressor e reparar o dano tecidual provocado na tentativa das células de defesa eliminar o causador da injúria. No entanto, quando o sistema imunológico é insuficiente na resposta inflamatória, a inflamação seguirá um curso crônico podendo resultar na perda de função do tecido (SACRAMENTO et al., 2017).

No sistema imunológico, a resposta inata é a primeira barreira atuante no processo inflamatório, com células que agem no tecido afetado. As primeiras células que atuam no processo inflamatório são os macrófagos e as células dendríticas localizados no local da lesão, as quais fagocitam os microrganismos e restos celulares. Adicionalmente, os macrófagos são importantes células secretoras que liberam uma variedade de mediadores químicos (NASCIMENTO et al., 2015). As células envolvidas estão presentes nos tecidos, como no caso das células endoteliais, células dendríticas e macrófagos, ou têm acesso ao local da inflamação pela ação da quimiotaxia que conduz as células da circulação, como plaquetas e leucócitos até o sítio inflamatório (CARLSEN et al., 2015).

Além dos eventos celulares, ocorrem também às alterações vasculares caracterizadas por vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo local, adicionalmente também se observa um aumento na permeabilidade vascular, culminando no extravasamento do plasma e células que saem da corrente sanguínea para atuar no sítio inflamatório (LIU; UZONNA, 2012).A

vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular com exsudação são resultado da ação de mediadores inflamatórios. Os mediadores inflamatórios são moléculas que agem para modular toda a resposta inflamatória (CARLSEN et al., 2015).

O processo inflamatório pode ser potencialmente danoso ao organismo quando sua intensidade ou duração ultrapassa o necessário para conter o agente agressor (ANTONISAMY; DURAIPANDIYAN; IGNACIMUTHU, 2011). Considerando o dano causado em consequência da resposta inflamatória, os anti-inflamatórios agem modulando e suprimindo a intensidade da resposta inflamatória para evitar danos teciduais (LIMA; VARGAS; POHLIT, 2010).

O processo inflamatório envolve uma cascata de eventos a nível bioquímico e celular, incluindo extravasamento de plasma, ativação de enzimas constitutivas e induzíveis, migração de células do sistema imunológico, sensibilização e ativação de receptores, lise e o reparo tecidual (CARLSEN et al., 2015; FREITAS-SILVA et al., 2014; LIU; UZONNA, 2012). As lesões teciduais desencadeiam uma reação inflamatória local, iniciadas e reguladas por mediadores inflamatórios, como as aminas (histamina e serotonina), as proteases plasmáticas (sistema complemento, cininas, bradicininas e calidina, e proteínas fibrinolíticas), derivados do ácido araquidônico (prostaglandinas, leucotrienos e fator ativador de plaquetas), citocinas (interleucinas e fator de necrose tumoral), óxido nítrico (NO), dentre outros (HSU et al., 2017; NASCIMENTO et al., 2015).

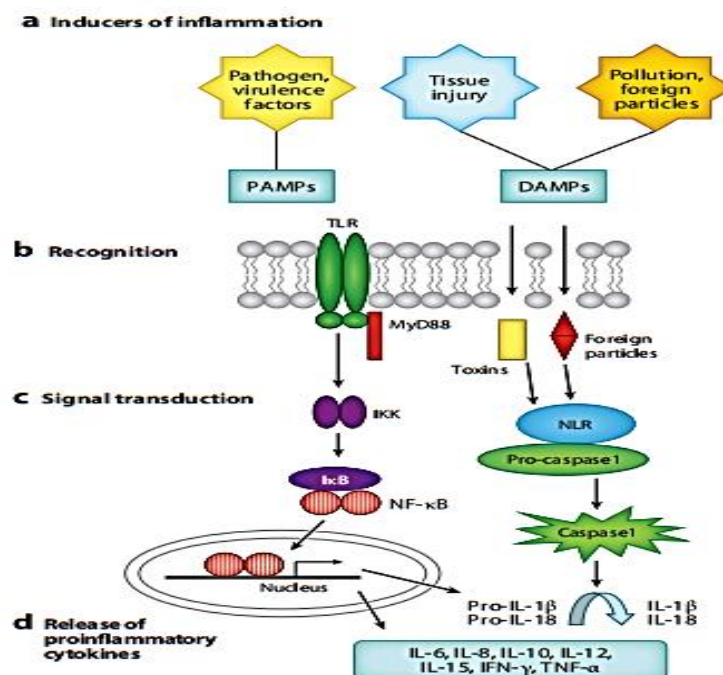
A inflamação aguda atua na tentativa de eliminar o agente causador da lesão e reparar o tecido lesionado. O que se espera da inflamação aguda é a resolução completa com retorno à homeostase. Uma resposta inflamatória aguda resulta na eliminação do agente infeccioso e o reparo tecidual mediado por macrófagos residentes e recrutado. Caso a inflamação aguda seja insuficiente para eliminar o agente infeccioso, o processo inflamatório persiste e adquire novas características. O infiltrado de neutrófilos é substituído por macrófagos e linfócitos, se o efeito combinado dessas células ainda continua insuficiente, um estado inflamatório crônico se instala (FREITAS-SILVA et al., 2014).

No processo inflamatório agudo são observadas algumas alterações fisiológicas como vasodilatação, aumento do fluxo sanguíneo local, aumento da permeabilidade vascular, infiltração de leucócitos, liberação de mediadores pró-inflamatórios e prejuízo tecidual por atividade de proteases e EROs (HSU et al., 2017).

A via pró-inflamatória é mediada por ativação de proteínas intracelulares, isso ocorre quando o sinal extracelular ativa a sinalização intracelular ERK/MAPK-1 (proteína quinase ativada por mitógeno). Este processo leva a síntese de mediadores pró inflamatórios, como interleucina 1 (IL-1), Fator de necrose tumoral- α (TNF- α), prostaglandinas tipo 2 (PGE₂) e NO (ABELLA et al., 2017; SACRAMENTO et al., 2017).

As proteínas quinases (PKs) constituem uma família de enzimas que, através da fosforilação de proteínas substrato, regulam a atividade e a função das mesmas (FREITAS-SILVA et al., 2014). A fosforilação dessas proteínas é responsável pela regulação celular, assim como a transdução de sinais na célula. Devido as suas funções de extrema importância, as PKs têm sido alvos de estudos para o desenvolvimento de novos fármacos que modulem suas funções (Figura 1) (WIEGMAN et al., 2015).

Figura 1: Via de ativação do NF- κ B na resposta inflamatória.



(a) Os PAMPs e DAMPs são patógenos, injúria tecidual e partículas estranhas que induzem o processo inflamatório. (b) são os receptores de reconhecimento de PAMPs e DAMPs. (c) a sensibilização do receptor de reconhecimento ativa a via do fator de transcrição (NF- κ B), no qual ocorre a fosforilação do I κ B, liberando o (NF- κ B) que transloca-se para o núcleo induzindo a transcrição de genes pró-inflamatórios. (d) transcrição de genes pró-inflamatórios. **Fonte:** Adaptado de (ASHLEY., et al 2012)

O conhecimento sobre mecanismos do processo inflamatório nos mostra a possibilidade de avaliar a evolução, bem como, reconhecer o mecanismo de ação dos

fármacos com efeito anti-inflamatório (NASCIMENTO et al., 2015). Atualmente existem muitas doenças que envolvem a inflamação, estas representam uma grande carga de mortalidade da população brasileira (DEWANJEE; DUA; SAHU, 2013; DUNCAN et al., 2012). A resposta inflamatória é um componente fisiopatológico que contribui para a instauração de muitas doenças e distúrbios metabólicos (HEADLAND; NORLING, 2015).

A inflamação é um processo mediado pela liberação de muitas substâncias conhecidas como mediadores inflamatórios, diversos mediadores químicos são produzidos por diferentes tipos de celulares como os leucócitos, plaquetas, células endoteliais e neurônios. Dentre os mediadores encontra-se à bradicinina, serotonina, prostaglandinas, leucotrienos, adenosina, histamina, neuropeptídeos como a substância P, citocinas, dentre outros (ALLER et al., 2006).

1.1.1 Mediadores inflamatórios

1.1.1.1 Histamina

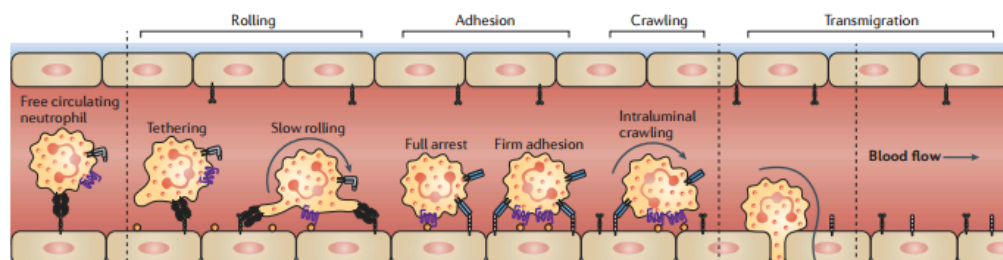
A histamina faz parte do grupo das aminas vasoativas, formado pela histidina descarboxilase, encontrado em mastócitos, basófilo e neurônios em forma de grânulos intracelulares (THURMOND et al., 2017). A histamina é liberada pelos mastócitos por exocitose em reações inflamatória ou alérgica, age nos receptores H1 nos músculos lisos provocando a contração nas células endoteliais permitindo o afastamento entre as células para o extravasamento de plasma e proteínas, caracterizando a formação do edema (THURMOND et al., 2017). A histamina também sensibiliza as fibras nervosas resultando no aparecimento de dor no local da inflamação (HALLIWILL et al., 2013).

1.1.1.2 Citocinas

Durante o processo inflamatório as citocinas são liberadas com objetivo de regular a ação das células envolvidas na resposta inflamatória. O TNF- α e IL-1 β são citocinas liberadas por macrófagos ativados. Após sua liberação as citocinas atuam favorecendo a aderência dos leucócitos ao endotélio aumenta a síntese de prostaciclina e desencadeiam uma cascata de citocinas secundárias, dentre outras ações. Enquanto as citocinas secundárias, como as quimiocinas, atraem as células inflamatórias para o local da lesão (NASCIMENTO et al., 2015).

As citocinas são proteínas que atuam de maneira parácrina para regular as atividades dos leucócitos. Como exemplo, temos as interleucinas, o $\text{TNF-}\alpha$, fatores de crescimento hematopoiéticos, o fator de estimulação de colônias de granulócitos-monócitos (GM-CSF) e o fator de estimulação de colônias granulocíticas (G-CSF). As quimiocinas constituem um subgrupo específico que promovem o recrutamento das células inflamatórias para o local de inflamação (ANTONISAMY; DURAI PANDIYAN; IGNACIMUTHU, 2011; FREITAS-SILVA et al., 2014). Durante o processo inflamatório agudo, a superprodução de $\text{TNF-}\alpha$ é fundamental para a indução de genes inflamatórios e ao recrutamento e ativação de células do sistema imunológico do hospedeiro (Figura 2) (NASCIMENTO et al., 2015).

Figura 2: Migração de Leucócitos—as fases de rolamento, adesão, transmigração e migração.



Fonte: Adaptado de Kolaczowska e Kubes, (2013).

1.1.1.3 Eicosanoides

Os eicosanoides reúnem uma família de compostos com 20 átomos de carbono com o oxigênio presente em sua estrutura e que tem como substrato para sua síntese os ácidos dihomo- γ -linolênico, araquidônico e eicosapentaenoico (MOREIRA; CURI; MANCINI-FILHO, 2002). Esses ácidos são ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (TEIXEIRA, 2010), por isso que Andrade e Carmo (2006), conceituaram os eicosanoides como correspondentes a metabólitos oxigenados dos ácidos graxos essenciais.

De acordo com Muri e colaboradores (2009) os eicosanoides representam os principais mediadores do processo inflamatório derivados principalmente do Ácido Araquidônico (AA) liberado dos fosfolipídios de membranas celulares pela ação da enzima fosfolipase A2. Fatores como o $\text{TNF-}\alpha$ e $\text{IFN-}\gamma$ são capazes de ativar a enzima fosfolipase A2 que degradará os fosfolipídios de membrana e originará o AA no qual é metabolizado pela ciclooxigenase ou pela lipoxigenase. O AA ao ser metabolizado pela ciclooxigenase e forma os prostanóides: prostaglandinas (PGs), tromboxanos (TXs) e prostaciclina (PCI) (ANDRADE; CARMO,

2006; BANDEIRA-MELO et al., 2017). Quando metabolizado pela lipoxigenase (LOX) forma os Leucotrienos (ABELLA et al., 2017; DVASH et al., 2015).

As cicloxigenases são enzimas importantes na fisiologia do organismo humano, está presente no organismo duas isoformas (COX -1) e a (COX - 2) (ABELLA et al., 2017; DVASH et al., 2015). Embora já haja relatos de uma terceira isoforma, a (COX - 3) denominada de ciclooxigenase central e descrita como uma variante da COX – 1 (TEIXEIRA, 2010). Segundo Brune e Hinz(2004) a COX-1 e a COX-2 têm aproximadamente 60% de homologia genética e seus genes estão localizados nos cromossomos 9 e 1. A primeira isoforma, a COX-1, está presente em grande parte dos tecidos, vasos sanguíneos, plaquetas, estômago, intestino e rins, portanto faz parte da fisiologia normal do corpo e por isso é considerada uma enzima constitutiva (MURI; SPOSITO; METSAVAHT, 2009). Os produtos catalisados pela COX-1 estão envolvidos na proteção gástrica, agregação plaquetária, homeostase vascular e manutenção do fluxo sanguíneo renal (ABELLA et al., 2017; DVASH et al., 2015). A segunda isoforma, a COX-2, não faz parte da fisiologia normal do corpo, sua produção está relacionada a injúria tecidual e induzida pelas citocinas IL-1 β , IL-2 e TNF- α e por outros mediadores como os fatores de crescimento e as endotoxinas, por tanto denomina-se de COX indutiva (SEVINSKY; STEWART; HARIRFOROOSH, 2017). A ação da ciclooxigenase difere de acordo com as células onde estão presentes. Nas plaquetas haverá a síntese de tromboxano A₂, no endotélio vascular resulta na síntese da glicolípido fenólico – 2 (PGI₂), nos macrófagos à formação de PGE₂ e nos mastócitos de prostaglandina D₂ (PGD₂) (VARAS-LORENZO et al., 2013).

A lipoxigenase é designada de acordo com a inserção da molécula de oxigênio no ácido araquidônico, sendo as 3 principais: 5-LOX, 12-LOX e 15-LOX. O produto da reação dessa enzima são os ácidos hidroperoxieicosatetraenóicos (HPETE) que podem ser reduzidos à ácido hidroxieicosatetraenóicos (HETE). A enzima 5-LOX forma o 5-HPETE que é o precursor direto LTA₄, o qual é o precursor de todos os leucotrienos bioativos potentes (NAKAMURA; SHIMIZU, 2011).

1.1.1.4 Prostaglandinas

As prostaglandinas desempenham papéis fisiopatológicos como o eritema e aumento do fluxo sanguíneo local, hiperalgesia, elevação da temperatura corpórea no hipotálamo

através de citocinas (RAMANAN et al., 2017). Existem vários subtipos de prostaglandina que desempenham várias funções, por exemplo, a prostaglandina E (PGE) tem sido amplamente investigada, por conta do seu papel como imunomoduladora (ANDRADE; CARMO, 2006).

Segundo Brune e Hinz (2004), as prostaglandinas (PGs) I_2 e E_2 tem efeito vasodilatadores prolongados e potencializam a permeabilidade vascular iniciada pela histamina e bradicinina. No sistema renal, essas duas prostaglandina são importantes para manter o fluxo sanguíneo e manter a homeostase (ALENCAR; ROCHA; PINHEIRO, 2005). Ramanan e colaboradores (2017) sugerem que além das PGI_2 e PGE_2 , a PGD_2 também age em sinergismo com a histamina e a bradicinina para alcançar o efeito de vasodilatação intrínseca e assim contribuir para a formação do eritema e aumento do fluxo sanguíneo nas áreas inflamadas.

O eicosanóide de predominância no processo inflamatório é a PGE_2 , a qual tem importância por sua ação pirogênica e no aumento da sensibilidade à dor. Nas regiões de inflamação aguda, estas prostaglandinas são produzidas pelos tecidos e vasos sanguíneos locais enquanto que os mastócitos liberam PGD_2 e o tromboxano A_2 . E na inflamação crônica macrófagos liberam também a PGD_2 e o tromboxano A_2 (SEVINSKY; STEWART; HARIRFOROOSH, 2017).

1.1.1.5 Tromboxanos

As plaquetas possuem a enzima tromboxanosintase que sintetiza o seu principal produto eicosanóide, o Tromboxano A_2 . Este é um potente vasoconstritor e promotor da agregação plaquetária. Como o endotélio não tem a enzima tromboxanosintase, ele expressa a prostaciclina sintase e produz a PGI_2 , que é o principal eicosanóide do endotélio vascular. A PGI_2 atua como vasodilatador e inibidor da agregação plaquetária. Nessa perspectiva a PGI_2 é um antagonista fisiológico do tromboxano A_2 . Qualquer desequilíbrio entre as duas moléculas pode acarretar hipertensão, isquemia, trombose, coagulopatia, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (SEVINSKY; STEWART; HARIRFOROOSH, 2017). O mecanismo de ação dos fármacos AINEs está baseado na inibição das enzimas ciclooxigenases, com consequente diminuição da produção de prostaglandinas, combatendo, assim, a inflamação, a dor e a febre. Existem substâncias que são seletivas para a COX-1 ou para a COX-2. A ação sobre a enzima constitutiva acarretará na inibição da formação de

tromboxanos e também no aumento do risco de sangramento e de danos no trato gastrointestinal (CARLSEN et al., 2015; LIU; UZONNA, 2012).

1.1.1.6 Leucotrienos

Os leucotrienos, assim como as PGs, têm ação vasodilatadora e edematogênica. Com exceção do scisteinil-leucotrienos, LTC₄, D₄ e E₄, que causam intensa vasoconstrição. São produtos derivados da ação das lipoxigenases que catalisam a inserção do oxigênio no ácido araquidônico e localizam-se no citosol das células nos pulmões, plaquetas, mastócitos e leucócitos. Quando a célula é ativada, a enzima 5-lipoxigenase vai para a membrana celular se associar à “proteína de ativação da 5-lipoxigenase” (SINGH et al., 2010).

A síntese dos leucotrienos começa quando forma-se LTA₄, que será convertido em LTB₄ ou LTC₄. A síntese de LTB₄ ocorre nos neutrófilos e nos eritrócitos e atua ao se ligar em um dos receptores BLT1 ou BLT2. A ligação ao BLT1, que é expresso em tecidos de defesa do hospedeiro, leva à quimiotaxia dos neutrófilos, agregação e migração através do endotélio, dentre outras. O LTB₄ também regula a função lisossômica e a produção de radicais livres dos neutrófilos, aumenta a produção de citocinas e potencializa as ações das células natural killer (NK). O receptor BLT2 ainda é desconhecido sua fisiologia (CARLSEN et al., 2015; FREITAS-SILVA et al., 2014; LIU; UZONNA, 2012).

A síntese do receptor LTC₄ ocorre nos mastócitos, eosinófilos, basófilos e macrófagos, e representam os cisteinil-leucotrienos. Esses, causam vasoconstrição, broncoespasmo e aumento da permeabilidade vascular ao se ligarem aos receptores CysLT1. Também, são responsáveis pela atividade a estímulos e contração das vias aéreas e do endotélio vascular que ocorrem nos processos alérgicos e asmáticos (CARLSEN et al., 2015; TREHANPATI; VYAS, 2017).

1.1.1.7 Óxido nítrico

O óxido nítrico, produzido principalmente pelas células endoteliais do tecido lesionado, possui potente ação vasodilatadora, o que leva a um aumento da permeabilidade vascular. Além disso, regula o recrutamento de leucócitos e exerce ação citotóxica contra microorganismos (BRABCOVÁ; L. KOLESÁR, E. THORBURN, 2014; SACRAMENTO et al., 2017).

O óxido nítrico pode ser produzido fisiologicamente pelo óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e pelo óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) a qual servirá como molécula mensageira no sistema cardiovascular e nervoso, respectivamente. No processo inflamatório, é produzido pela óxido nítrico sintase induzível (iNOS), a partir do oxigênio molecular e da L-arginina (NASCIMENTO et al., 2015). O NO está relacionado com a regulação da permeabilidade vascular e da morte celular durante o processo inflamatório (SACRAMENTO et al., 2017), atua como um importante mediador da inflamação (HSU et al., 2017), dado que após a sua formação ocorre dilatação dos vasos sanguíneos e aumento do volume de exsudato (BRABCOVÁ; L. KOLESÁR, E. THORBURN, 2014).

A enzima iNOS está relacionada com processos inflamatórios. Todas as células inflamatórias expressam essa enzima em resposta às citocinas, como IFN- γ . O NO possui funções pró-inflamatórias, o qual induz a vasodilatação, aumenta a permeabilidade vascular, atua na produção de prostaglandinas e apresenta funções citotóxicas que atacam os microrganismos (HSU et al., 2017). O NO resultante da ativação da i-NOS possui ação citotóxica e citostática, promovendo a destruição de microrganismos, parasitas e células tumorais. (SANT'ANA DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003). Adicionalmente, pode atuar ligando-se à enzimas envolvidas na respiração celular, impedindo o funcionamento adequado (HSU et al., 2017; SACRAMENTO et al., 2017).

Segundo Nascimento et al., (2015) a síntese do NO é um dos principais processos de ativação de macrófagos sendo de extrema importância para o controle de diversos processos fisiopatológicos incluindo a destruição de microrganismos infecciosos. O IFN- γ e Lipopolissacarídeos (LPS) bacterianos são alguns dos principais ativadores de macrófagos e indutores de NO (ALLEY; MURPHY; RUSSELL, 1995).

1.2 Nociceção e dor

A associação internacional para o estudo da dor (IASP) no ano de 2007 se reuniu em Kyoto para definir um conceito de dor, definindo a dor como: “uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada a uma lesão tecidual, real ou potencial, ou descrita em termos de tal lesão”. Contudo, a IASP modificou este conceito e passou a defini-la como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a uma lesão tissular, potencial

ou real, ou mesmo a nenhuma lesão”, embora, ainda assim, descrita com termos sugestivos de que o dano tecidual tivesse de fato ocorrido (IASP, 2010).

A dor é uma sensação subjetiva onde cada indivíduo aprende a aplicação do termo através de experiências relacionadas com lesões no início da vida (LOESER; TREEDE, 2008). Quanto que a nocicepção ou sensação nociceptiva, segundo Teixeira(2010) “resulta da ativação de determinadas subpopulações de neurônios sensoriais primários, que transmitem a informação nociceptiva para a medula espinhal, de onde é retransmitida para níveis supra espinhais. A nocicepção é a percepção corporal da dor, termo fisiológico usado para descrever o processo neural de codificação e processamento de estímulos nocivos (LOESER; TREEDE, 2008).

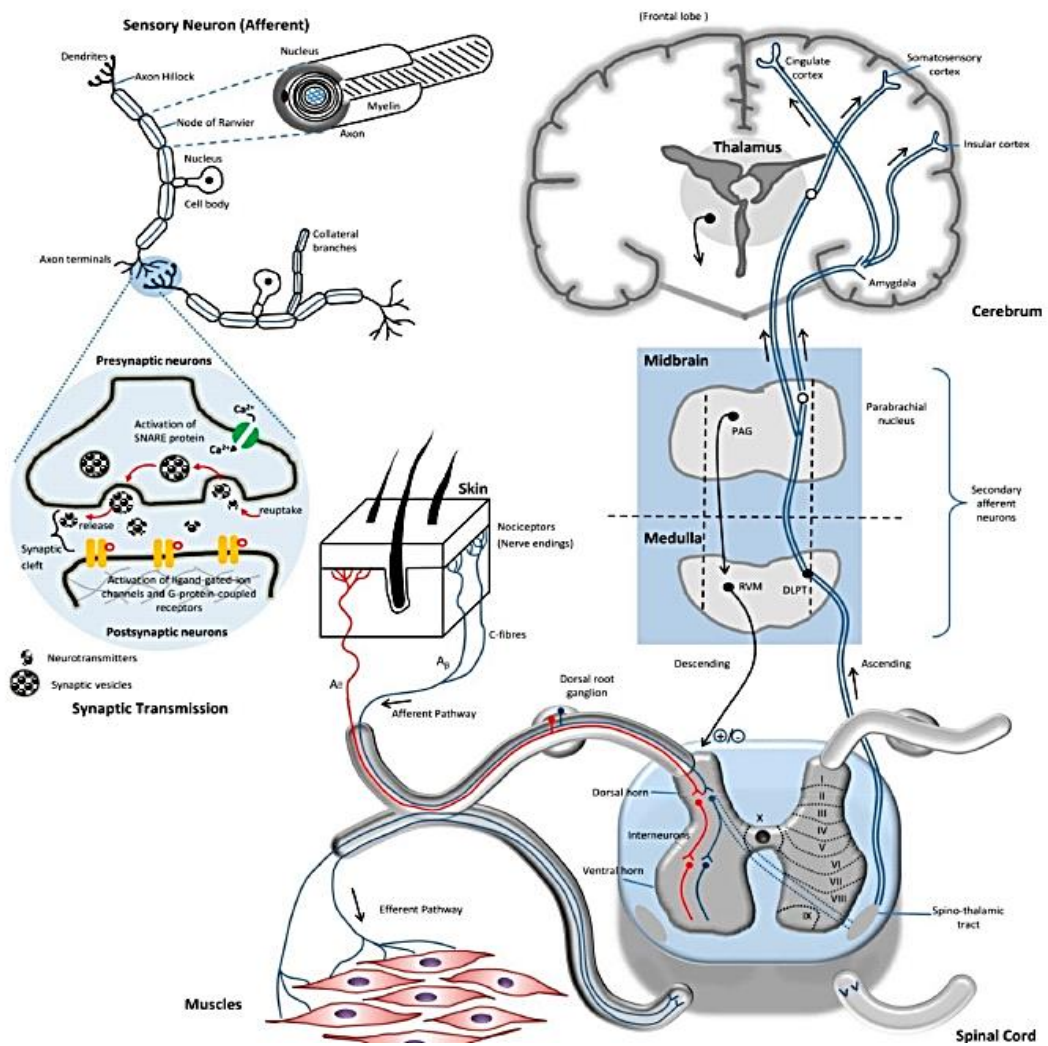
Em 1906 foi introduzido na comunidade científica o termo nocicepção com objetivo de diferenciar a percepção de estímulos nocivos da sensação de dor. Nessa perspectiva, a nocicepção consiste na recepção e decodificação do estímulo nocivo através do componente do sistema nervoso chamado de nociceptores. Morfológicamente os nociceptores são terminações nervosas livres associadas a fibras aferentes primárias com características distintas, como limiares de ativação e sensibilidade, quando comparada a outras estruturas nervosas sensoriais (ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004; LOESER; TREEDE, 2008). Os neurônios que participam do circuito nociceptivo são classificados como sensoriais e motores. Os neurônios sensoriais recebem o estímulo e enviam ao sistema nervoso central, enquanto os neurônios motores são responsáveis por receber os sinais produzidos no córtex ou medula e provocar uma resposta ao estímulo inicial (YAM, et al., 2018).

De acordo com Stanfield (2013), alguns fatores importantes podem gerar a dor, como excesso de estímulos nociceptivos, diminuição do limiar de disparo sensitivo ou ainda pela hipoatividade do sistema supressor. Seguindo a fisiologia normal da dor, o nervo aferente do sistema nervoso periférico (SNP) recebe o estímulo sensorial e transmite para o sistema nervoso central (SNC), onde será decodificado e interpretado o sinal. A nocicepção pode ser modulada por mecanismos que podem sensibilizar ou suprimir a percepção do estímulo.

A sensação de dor é explicada por três mecanismos interligados (transdução, transmissão e modulação). No processo de transdução ocorre à ativação dos nociceptores por estímulos nocivos seja ele (mecânico, térmico ou químico), que dará origem a um potencial

de ação. Na transmissão, ocorre a condução do impulso nervoso gerado pelos nociceptores através de um conjunto de vias levando a informação dolorosa até o sistema nervoso central. Finalizando com a modulação da informação, que pode ativar vias responsáveis pela supressão da dor (Figura 3) (MESSLINGER, 1997; PORTO, 2004).

Figura 3: Circuito do processo nociceptivo



A imagem do lado esquerdo ilustra a transmissão sináptica que ocorre durante a transmissão do impulso nervoso. Enquanto a imagem do lado direito demonstra o circuito nociceptivo (transdução, transmissão e modulação).
Fonte: Adaptado de (YAM, et al., 2018).

Transdução da dor

Dentre os sistemas sensoriais, o somestésico responde a uma variedade de estímulos, no entanto, necessita de uma diversidade de receptores. Os receptores somestésicos são os mecanorreceptores responsáveis por detectar (pressão, força e vibração), os termorreceptores que detectam (temperatura de calor e frio da pele), e os nociceptores para detectar estímulos

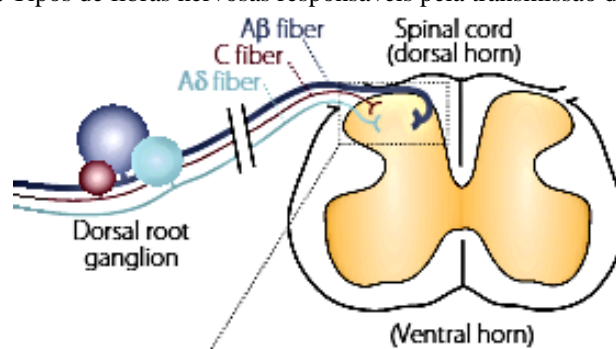
nocivos aos tecidos (MUIR; HUBBELL; DE MELLO, 2001).

1.2.1 Transmissão da dor

O estímulo ativará os nociceptores para dar início ao potencial de ação na membrana da célula nervosa. Uma vez gerado o potencial de ação, o estímulo se propaga pela fibra nervosa ascendente até a medula espinhal, em seguida para o córtex cerebral, no córtex será processada a informação e gerada uma resposta fisiológica, seja emocional ou comportamental (MUIR, 1998).

A condução dos estímulos nocivos de origem térmica ou mecânica é realizada através das fibras C e A δ . Existe uma diferença entre as duas fibras em relação a sua composição por bainha de mielina, a fibra C não é mielinizada e conduz o estímulo em menor velocidade. Enquanto a fibra A δ é pouco mielinizada, conduzindo o impulso nervoso em maior velocidade. A fibra A β também conduz estímulos, porém são estímulos inócuos aplicados na pele, músculos e articulações, apresentam elevada mielinização e alto calibre. Na ausência de danos teciduais ou nervosos, as fibras A β transmitem informação referente a estímulos inócuos, como tato, vibração e pressão. A dor rápida, fina e localizada ativa as fibras A δ , enquanto a dor difusa e persistente ativa as fibras C (Figura4) (WOOLF; SALTER, 2000).

Figura 4: Tipos de fibras nervosas responsáveis pela transmissão de estímulos.



Diferentes tipos de neurônios sensoriais primários, responsáveis pela condução do sinal nociceptivo da periferia ao SNC. **Fonte:** Adaptado de (TSUDA, 2016).

Tabela 1: tipos de fibras e suas propriedades na condução do estímulo nociceptivo

Tipos de fibras	A β	A δ	C
Mielinização	Muita	Pouca	Ausente
Velocidade de condução (m/s)	30 – 100	1,2 – 30	0,5 – 2
Temperatura	Não reconhece	>53°C	>43°C
Tipo de sinal	Propriocepção (toque leve)	Térmico, mecânico e químico.	Térmico, mecânico e químico.

O estímulo é conduzido até o sistema nervoso central através de neurônios aferentes que são os nociceptores. Os neurônios encontrados no sistema nervoso periférico responsável pela percepção do estímulo são chamados de neurônio de primeira ordem. O neurônio de primeira ordem se comunica com neurônio de segunda ordem no SNC através de sinapse. No tálamo os neurônios de segunda ordem estabelecem sinapses com os neurônios de terceira ordem, no qual é responsável por transmitir informações ao córtex cerebral, onde ocorre a percepção sensorial (PISERA, 2005).

1.2.2 Modulação da dor

O mecanismo da dor envolve na parte final, após a transdução e transmissão, a modulação da dor que tem como princípio a diminuição ou atenuação do sinal, resultando em alterações na percepção final do estímulo (STANFIELD, 2013). Claudiano (2011) afirma que as influências de mediadores podem suprimir a dor ou estimula ainda mais.

De acordo com Teixeira (2010): “a supressão da dor decorreria da inibição pré-sináptica na medula espinhal resultante da colisão entre potenciais dos aferentes primários e os antidrômicos originados na substância gelatinosa do corno posterior da medula espinhal (substância cinzenta da medula espinhal)”. Teixeira (2010) afirma que: “os sinais dolorosos que chegam ao corno dorsal da medula ativam interneurônios inibitórios locais, os quais formam sinapses recíprocas com os neurônios aferentes primários e, em certos casos, com os neurônios ascendentes secundários, criando uma espécie de feedback inibitório”. De acordo com Driessen(2007), existem vários mediadores na modulação da dor, a exemplo os neuropeptídios opioides, que atuam em receptores μ e κ , neurotransmissores adrenérgicos e em receptores $\alpha 2$, serotonina, ácido gama-aminobutírico (GABA), glicina e estrogênio.

1.2.3 Mediadores da dor

Os mediadores pró-inflamatórios interagem com seus receptores presentes em nociceptores, induzindo tanto a sensibilização, quanto a ativação destes neurônios. Os mediadores químicos como o glutamato, serotonina, ATP, prótons, adenosina, e outros, liberados durante uma lesão tecidual, atuam em canais iônicos no interior da célula, resultando na deflagração do potencial de ação (JULIUS; BASBAUM, 2001). Alguns

mediadores como a bradicinina, substância P e as prostaglandinas, não atuam em canais iônicos, atua em receptores acoplados a proteína G (LEVITAN, 1994). A Prostaglandina é o principal prostanóides envolvida na modulação da dor uma vez que cursa com eventos vasculares e celulares resultando na gênese dos sinais clássicos da inflamação (ALENCAR; ROCHA; PINHEIRO, 2005).

Os mediadores hipotalâmicos, na sua maioria, como a somatostatina, a vasopressina-arginina e o hormônio estimulante de melanócitos (MSH) agem de forma inibitória sobre a resposta febril, por isso é denominado de verdadeiros criógenos endógenos (VOLTARELLI, 1994). Contudo em lesões tissulares esses mediadores químicos catalisam a transmissão dolorosa que resulta em hiperalgesia (MURI; SPOSITO; METSAVAHT, 2009).

1.3 Plantas medicinais

As plantas podem ser encontradas em todos os habitats do nosso planeta, no entanto, é nos países com clima tropical que existe maior variedade delas. As preparações a base destes produtos são bastante conhecidas popularmente em países em desenvolvimento, principalmente pelo aspecto cultural do uso e pela crença no poder medicinal (SCHULZ et al., 2013). Os medicamentos oriundos de substâncias naturais são capazes de tratar cerca de 80% das enfermidades que acometem a humanidade. Apresentando várias atividades farmacológicas como antimicrobianos, anticoagulantes, antiparasitárias, imunossuppressores dentre outros (NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2003).

A medicina tradicional é uma prática cultural, caracterizada pelo uso de plantas medicinais para fins de profilaxia e tratamento de várias doenças. As plantas medicinais representam uma opção terapêutica da população sem necessariamente substituir os medicamentos já comercializados. Constituindo uma fonte promissora para descoberta de novos medicamentos (DE LA CRUZ et al., 2014). Para ser considerada planta medicinal pela população, as plantas precisam ser eficazes na prevenção e/ou tratamento de doenças (COAN; MATIAS, 2013).

Segundo Pinto (2008) o poder curativo das plantas tem sido gradativamente comprovado em estudos científicos e levado a profissionais da saúde a recomendá-las como

recurso terapêutico, porém, com cautela, haja vista que algumas plantas medicinais também podem apresentar toxicidade. No conhecimento popular, a planta tóxica é diferenciada da medicinal de acordo com os sintomas que ela produz no organismo (COAN; MATIAS, 2013).

Os compostos derivados de plantas medicinais têm sido empregados com diferentes finalidades, como nas indústrias alimentares, cosmética e farmacêutica (FIGUEIREDO; BARROSO; PEDRO, 2007). As plantas medicinais aromáticas têm sido utilizadas pela população para finalidades terapêuticas, trazendo benefícios e resultados no tratamento de diversas doenças. A atividade farmacológica do óleo essencial extraídos destas plantas aromáticas deve-se a presença de terpenos, como os monoterpenos e sesquiterpenos que são os componentes majoritariamente encontrados nestes vegetais (SIMÕES; SPITZER, 2004). A tabela 1 demonstra vários estudos anteriores que comprovam diversas atividades farmacológicas atribuídas aos metabólitos secundários terpenos (monoterpenos e sesquiterpenos), presentes em amostras de óleos essenciais de diferentes espécies vegetais.

Tabela 2: Atividades farmacológicas de componentes químicos presentes em amostras de óleo essencial.

Compostos	Atividade Farmacológica	Autores
Monoterpenos hidrocarbonetos		
Camphene	Anti-inflamatório.	Quintans-Júnior et al. (2013).
Limonene	Estimulante, antiviral, antitumoral, descongestionante, antibacteriana, hepatoprotetora, antisséptica.	DjilaniandDicko (2012).
p-Cymene	Anti-inflamatório	Quintans-Júnior et al. (2013).
α -Pinene	Antimicrobiano, anti-inflamatório	Silvaetal.(2012).
β -Pinene	Antimicrobiano	Silva et al. (2012).
Monoterpenos oxigenados		
1,8-Cineole	Anti-inflamatório, analgésico, citotóxico, antiexudante.	Santos and Rao (2000), Asanova et al. (2003).
α -Terpineol	Anti-hipnocéptico, anti-inflamatório.	Oliveira et al. (2012).
Myrtenol	Inibição da dor	Kaufmann et al. (2011).
Thymol	Antioxidante, anti-inflamatório, cicatrizante.	Riella et al. (2012), Javan and Javan (2014).
Monoterpeno aldeídos		
Myrtenal	Antioxidante, antiapoptótico	Babu et al. (2012).
Sesquiterpenos oxigenados		
α -Cadinol	Atividade antitermética, atividade inseticida	Leandro et al. (2012).

	contra larvas do mosquito da febre amarela.	
α -Cyperone	Antiagregante plaquetário, antiinflamatório.	Jung et al. (2013).
Mustakone	Anti-plasmodial.	Rukunga et al. (2008).
Óxido de cariofileno	Atividades antifúngicas, anti-inflamatórias, anticarcinogênicas e estimulantes da pele.	Ghannadi et al. (2012).
Eugenol	Antioxidante, anti-inflamatório e cardioprotetor.	Pramod et al. (2010).
Sesquiterpenos hidrocarbonetos		
α -Copaene	Citotóxico, citogênico	Turkez et al. (2014).
β -Elemene	Antitumor, anti-aterosclerose, anti-restenose.	Dong et al. (2013).
β -Caryophyllene	Antiinflamatório, indutor de apoptose.	Amiel et al. (2012), Sain et al. (2014).

O uso de plantas medicinais tem uma tradição passada de geração a geração com o seguinte dizer “tudo que é natural não faz mal” sustentando uma crença de que o uso de plantas medicinais é isento de efeitos tóxicos, o que não é verdade, pois estudos mostram que mesmo as substâncias provenientes de plantas não são desprovidas de toxicidade. Neste sentido, o teste de toxicidade é um passo essencial para garantir que a administração de substâncias derivadas de plantas medicinais ocorra sem riscos à saúde (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005).

De acordo com a FDA (2002), a avaliação de toxicidade torna-se necessário e importante para qualquer estudo que busca um novo produto com finalidade terapêutica. A avaliação da toxicidade tem como objetivo classificar as substâncias quanto a sua capacidade de interferir na homeostasia e causar danos ao organismo vivo. O protocolo desenvolvido pela Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (Organization for Economic Cooperation and Development – OECD) é um instrumento amplamente usado na avaliação da toxicidade aguda (SPINDLER; SJOBERG; KNUDSEN, 2000).

1.3.1 Família Cyperaceae

São ervas anuais ou perenes, glabras ou pilosas, que possuem talos eretos e ascendentes, frequentemente trígonos, sólidos. É uma família cosmopolita com cerca de 9

gêneros e 4.000 espécies, das quais 845 ocorrem nos neotrópicos, em solos úmidos (DAVIDSE; SOUZA; CHATER, 1995).

De acordo Bumet al., (2003) na identificação da Cyperaceae se faz necessário observar algumas características morfológicas como: rizomas, caules, folhas, inflorescência, espiguetas, flores, frutos e sementes. Muitas espécies de Cyperaceae apresentam rizomas seriados, cespitosos ou estoloníferos, os quais podem terminar em tubérculos ou, mais raramente, formar rosários de tubérculos. O gênero *Cyperus* possui aproximadamente 550 espécies cosmopolitas, distribuídas nos trópicos e subtropicais (DAVIDSE; SOUZA; CHATER, 1995).

A *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L. conhecida como pripioca é nativa do continente americano, encontrada no sudeste dos Estados Unidos, na América Central, Índias Ocidentais, Caribe e na América do Sul. No Brasil é encontrada nas faixas litorâneas dos estados do norte e nordeste. Tem preferência por locais úmidos ou alagados com solos arenosos, tolera condições de elevada salinidade, como a beira-mar (DAVIDSE; SOUZA; CHATER, 1995). Na região norte, no estado do Pará foram encontradas espécies de *Cyperus articulatus* L, *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L.e *Cyperus prolixus* (CASTELLANI et al., 2011).

1.3.1.1 *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L.

Esta espécie é conhecida popularmente como Pripioca, esse nome tem sua origem de uma lenda indígena. Diz a lenda, que um guerreiro chamado Piripiri exalava um cheiro irresistível para as mulheres da comunidade. Quando as mulheres tentavam se aproximar, ele sempre se desfazia em fumaça. O pajé da comunidade aconselhou então a tentar segui-lo, elas amarraram os pés do guerreiro com os próprios cabelos, mas foi inútil. Pela manhã ele havia desaparecido de vez. No local onde ele dormia, surgiu uma planta cujas raízes exalavam o mesmo cheiro de Piripiri. Pripioca se refere então a “Casa de Piripiri” (SILVA et al., 2008).

É caracterizada como uma espécie de capim alto, com flores miúdas em sua extremidade (Figura 5). Os talos de capim alto escondem sob a terra raízes de fragrância incomum na forma de pequenos tubérculos que, quando cortados, exalam um perfume fresco,

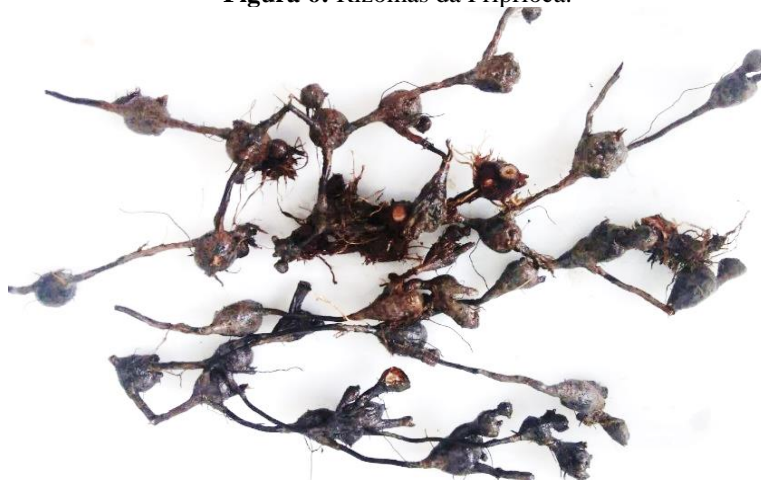
amadeirado e picante (Figura 6). No Brasil, sobretudo no estado do Pará são conhecidas como priprioca três espécies pertencentes à família Cyperaceae: A priprioca *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L., a priprioquinha *Cyperus articulatus* L. var. *articulatus* e o Priprioção *Cyperus prolixus* (CASTELLANI et al., 2011; ZOGHBI et al., 2006).

Figura 5: Plantio de Priprioca.



Autor: Jander Lopes, 2019.

Figura 6: Rizomas da Priprioca.



Autor: Jander Lopes, 2019.

A planta foi preservada pelas populações caboclas que, durante os séculos de colonização portuguesa, foram substituindo as tribos que ocupavam a bacia amazônica (ZOGHBI et al., 2006). O plantio da priprioca é tradicionalmente realizado em áreas de queimada de mata secundária, onde há cinzas, e em consórcio com a mandioca, sua propagação se dá por meio de rizomas delgados, apesar de se reproduzir por sementes, esta prática é pouco recomendada. Os tubérculos são brancos e suculentos, variando de marrom a

preto além de tornarem-se fibrosos com a idade; os colmos são eretos, lisos contínuos e triangulares na seção transversal, apresentando geralmente 30 a 40 cm de altura. Ocasionalmente alcançam 70 cm de altura e muitos são encontrados até com 1m de altura em solos férteis e úmidos (BUM et al., 2003).

Baseado em estudos etnobotânicos, surgiu o interesse de pesquisar a *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L. tais estudos apontam o uso desta espécie como anti-inflamatório, sedativo e anticonvulsivo (CASTELLANI et al., 2011; ZOGHBI et al., 2006). Muito utilizada também como contraceptiva, analgésica e tratamento de diarreias (BUM et al., 2003; FORERO-DORIA et al., 2014; RAKOTONIRINA et al., 2001). Na literatura, até o momento, não foram encontrados estudos relacionados à possível atividade anti-inflamatória e antinociceptiva da *Cyperus articulatus* var. *nodosus*, a (tabela 3) traz algumas atividades farmacológica já estudadas da espécie *Cyperus articulatus*.

Tabela 3: Atividades farmacológicas da *Cyperus articulatus*

Atividade	Referências
Sedativas	(RAKOTONIRINA et al., 2001)
Antioxidante	(AZZAZ et al., 2014)
Antibacteriana	(MONGELLI et al., 1994)(OLADOSU et al., 2011; AZZAZ et al., 2014)
Anticonvulsivante	(BUM et al., 2001; BUM et al., 2003)
Antiplasmódica	(RUKUNGA et al., 2008)
Antifúngica	(DUARTE et al., 2005)

2 JUSTIFICATIVA

As plantas medicinais são importantes fontes de moléculas com atividades terapêuticas. O Brasil é conhecido mundialmente por apresentar uma flora bastante diversificada. Dentre as espécies de interesse da região, encontra-se a *Cyperus articulatus var. nodosus L.*, pertencente à família Cyperaceae, conhecida no estado do Pará como priprioca, cuja utilização mais conhecida é a produção de seu óleo essencial, largamente empregado pela indústria cosmética.

Com base em informações etnofarmacológicas, o óleo essencial da *Cyperus articulatus var. nodosusL.* é bastante utilizado em doenças inflamatórias, fato que despertou o interesse em estudar as propriedades anti-inflamatória e antinociceptiva desta espécie. Há o interesse na pesquisa de óleos essenciais pelo fato de vários estudos já comprovarem propriedades farmacológicas como sedativos, antiplasmódica, anti-inflamatória, antimicrobianos, antidiarreico e outras.

Considerando a grande quantidade de doenças que cursam com sintomas de inflamação e dor. Os AINEs inibe a síntese de prostaglandinas mediante a inativação das isoenzimas COX-1 (fisiológica) e COX-2 (induzível). Contudo, a inibição destas isoenzimas provoca sérios efeitos colaterais úlcera gástrica, nefropatias, hemorragia digestiva, insuficiência cardíaca e outros problemas cardiovasculares. A ANVISA, em 2004, retirou do mercado o medicamento Vioxx[®], inibidor de COX-2, pelo fato de ter provocado sérios problemas cardiovasculares. A morfina é conhecida por sua eficácia no alívio de dor intensa, entretanto, a morfina possui alguns efeitos colaterais como a depressão respiratória, constipação, constrição brônquica, hipotensão, náuseas, vômitos e outros além da tolerância e dependência física. Essas condições reforçam a necessidade da pesquisas de novos compostos anti-inflamatório e analgésicos mais seletivos e com menos efeitos colaterais que possam ser utilizados com melhores alternativas terapêuticas.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar a atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo essencial de *Cyperus articulatus var. nodosus L.* (OECA) em modelos de inflamação e nocicepção em ratos e camundongos.

3.2 Específicos

- Caracterizar quimicamente os constituintes do OECA.
- Investigar toxicidade oral aguda em ratos e camundongos.
- Avaliar atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Cyperus articulatus var. nodosus L.* (OECA).
- Investigar o mecanismo de ação farmacológico da atividade antinociceptiva do OECA nos receptores opioides.
- Avaliar o efeito anti-inflamatório do OECA sobre a permeabilidade vascular e migração de leucócitos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta do material botânico

Os rizomas da *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L. foram coletados em março (período seco) em uma área de cultivo na região do Tabocal, BR-163, no município de Santarém, Pará, [(- 54°43'00,10"W e -02°37'41,10"S)]. A espécie foi identificada pelo botânico Dr. Antônio Elielson Sousa da Rocha. Um exemplar da exsicata foi depositado no herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi localizado em Belém, Pará, sob número de registro MG: 207174.

4.2 Extração do OECA

O óleo essencial de *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L. foi cedido gentilmente pelo Prof. Lauro E. S. Barata do Laboratório de Pesquisa & Desenvolvimento de Produtos Naturais Bioativos, UFOPA, PA, Brasil. Foram coletados 5 kg de rizomas de *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L.. Após a coleta os rizomas foram submetidos à limpeza, secos por um período de 3 dias consecutivos e moídos em moinho de facas em ambiente aberto. Após lavagem e secagem em estufa a 60 °C, o material foi triturado e submetido à destilação por arraste a vapor em uma dorna de 150 L, com uma duração de 4 h, e água como solvente de arraste. Após extração o óleo essencial foi armazenado sob refrigeração em frasco âmbar para conservação de seus constituintes (SIMÕES, 2016).

4.3 Análise cromatográfica

A análise da composição química do OECA foi realizada no Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrônomicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), com a participação da Me. Aline Aparecida Kasper (Laboratório de Pesquisa & Desenvolvimento de Produtos Naturais Bioativos, UFOPA, PA, Brasil). O equipamento utilizado foi o cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massa Agilent, modelo HP-6890 equipado com um detector seletivo de massas, com coluna capilar HP-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) nas seguintes condições: temperatura do injetor = 220°C, coluna = 60°C, taxa de aquecimento de 3°C/min até 280°C (20 min) e detector = 250°C. Foi utilizado hélio como gás de arraste numa vazão de 1mL/min. Os espectros de massa obtidos foram comparados com a biblioteca eletrônica do equipamento (NIST-05) e com a bibliografia Adams (2007).

4.4 Animais

Todos os protocolos experimentais foram submetidos e aprovados pela comissão de ética em uso de animal CEUA/UFOPA sob o protocolo (nº 07004/2013). Foram utilizados camundongos *Swiss* de ambos os sexos (20 a 35g) e ratos *Wistar* de ambos os sexos (150 a 250g). Obtidos do biotério da Universidade Federal do Oeste do Pará - Campus Oriximiná, desde o nascimento. Mantidos no biotério da Universidade federal do Oeste do Pará – Campus Tapajós, em temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, humidade relativa: 55-65%; ciclo claro-escuro de 12h, com ração e água a vontade.

4.5 Drogas e soluções

Foram utilizadas as seguintes substâncias: dexametasona (Sigma Chemical Co), Óleo essencial de *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L., Indometacina (Sigma Chemical Co), carragenina (Sigma Chemical Co), Ácido acético (Merck), EDTA (Labtest), Morfina, Formol a 2,5%, Tween 80, PBS, NaCl 0,9%, Água destilada, Azul de Evanz, ketamina e xilazina.

4.6 Planejamento experimental

Os animais receberam tratamento, por via oral, com OECA em três doses diferentes, definidas de acordo com o teste de toxicidade oral aguda. Essas doses corresponderam a 1/200, 1/20 e 1/5 da dose máxima (2000 mg/kg) utilizada no teste de toxicidade aguda. Para efeito comparativo da resposta anti-inflamatória foi utilizado o fármaco padrão Dexametasona (0,6mg/kg), e para a comparação do efeito antinociceptivo utilizou-se a Indometacina (5 mg/kg) e a Morfina (10 mg/Kg). O controle negativo foi tratado veículo (Tween 80 e SF 0,9%). O volume administrado em todos os teste foi 1 ml/100g de peso do animal. Ao término de cada teste os animais foram eutanasiados por superdosagem de anestésico, colocados em sacos identificados como risco biológico, congelados e eliminados por uma empresa especializada.

Em todos os testes os animais foram divididos em cinco grupos (n=5) e tratados como a seguir:

O grupo 1: Controle negativo, tratado com veículo e estímulo nociceptivo ou pró-inflamatório.

O grupo 2: Controle positivo, tratado com fármaco padrão e estímulo nociceptivo ou pró-inflamatório.

O grupo 3: tratado com OECA (10 mg/kg v.o) e estímulo nociceptivo ou pró-inflamatório.

O grupo 4: tratado com OECA (100 mg/kg v.o) e estímulo nociceptivo ou pró-inflamatório.

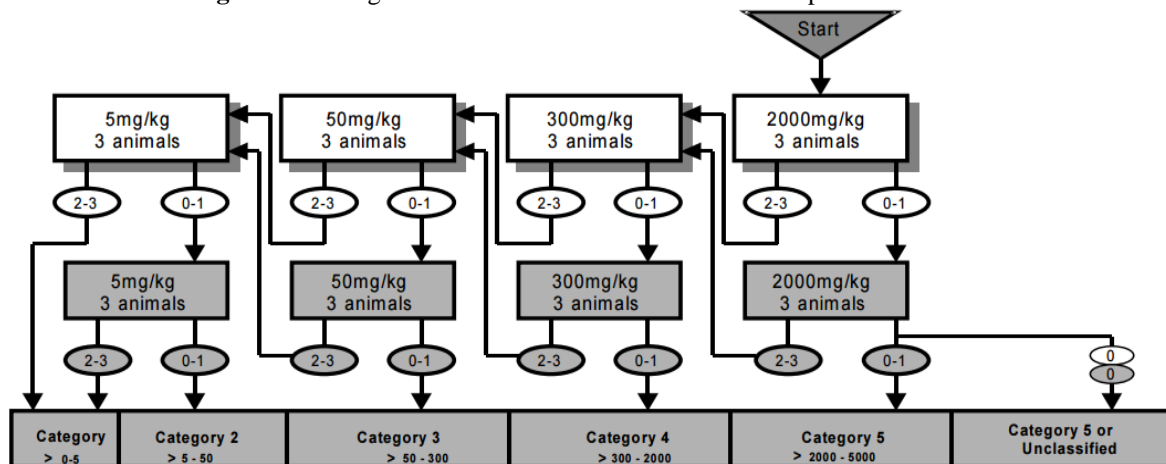
O grupo 5: tratado com OECA (400 mg/kg v.o) e estímulo nociceptivo ou pró-inflamatório.

4.7 Toxicidade oral aguda

No estudo da toxicidade oral aguda seguiu-se o protocolo OECD (2001) *Guideline for Testing of Chemicals* 423. O teste foi realizado com ratos e camundongos, no qual se iniciou com três ratas fêmeas no grupo controle e três ratas fêmeas no grupo OECA (2.000 mg/kg), escolhidas aleatoriamente. Os animais ficaram em jejum e foram pesados antes de serem tratados com as substâncias, permaneceram sem alimento durante três horas subsequentes.

Após o tratamento, cada animal foi observado quanto ao ganho ou perda de massa corpórea semanalmente e quanto ao surgimento de sinais clínicos de toxicidade oral aguda (alterações de pelos, pele, olhos, mucosas, tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sono, coma e morte) durante as primeiras 24 horas, nos períodos de 15 min, 30 min, 1h, 2h, 4, 12h e diariamente durante 14 dias após a administração do controle e OECA (2.000 mg/kg) (Figura 7). O mesmo procedimento foi aplicado para camundongos fêmeas, à opção por animais fêmeas se justifica ao fato de possuírem sensibilidade igual ou maior aos machos quando expostas ao contato com substâncias químicas (OECD, 2001).

Figura 7: Fluxograma do teste de toxicidade conforme o protocolo OECD.



4.8 Avaliação da atividade antinociceptiva

4.8.1 Teste de placa quente

O teste seguiu o protocolo descrito por Macdonald et al., (1946). No qual os animais foram colocados sobre uma placa metálica previamente aquecida na temperatura constante de ($55 \pm 1^\circ\text{C}$). O tempo de latência para manifestar sinais de desconforto (lamber as pastas ou pular) foi mensurado para avaliar o efeito antinociceptivo do OECA. Os camundongos foram tratados com OECA (10, 100 e 400 mg/kg v.o), Morfina (10 mg/kg i.p) e veículo. As medidas de latência foram realizadas nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos. O tempo zero corresponde a 60 minutos após o tratamento dos animais com o OECA e veículo, e a 30 minutos após o tratamento com Morfina. Com objetivo de impedir a lesão tecidual os animais não podem ultrapassar o tempo de 30 segundos na placa aquecida mesmo não manifestando sinais de desconforto.

4.8.2 Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético

O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético seguiu o modelo do protocolo de (Koster et al., 1959). Camundongos foram tratados oralmente com OECA (10, 100 e 400 mg/kg v.o), Indometacina (5 mg/kg v.o) e veículo. Após 1h, uma solução de ácido acético a 0,6% foi injetada (0,1 mL/10 g de peso animal) na cavidade peritoneal. Dez minutos depois, os camundongos foram observados, e o número de contorções foi registrado durante 20 minutos.

4.8.3 Teste de Formalina

O teste de formalina seguiu o protocolo descrito por Hunskaar; Hole, (1987). Os camundongos foram tratados oralmente com OECA (10, 100 e 400 mg/kg v.o), Morfina (10 mg/kg i.p.) e veículo. Após 1h da administração do OECA e veículo, e após 30 minutos da Morfina, receberam uma injeção de 20 μL de formalina 2,5% na região subplantar direita. Logo após a injeção, o tempo em que o animal passou lambendo ou mordendo a pata tratada foi registrado. A observação e registro da nocicepção foram avaliados nos intervalos de 0-5 minutos (1ª fase, dor neurogênica) e de 15-30 minutos (2ª fase, dor inflamatória) após a injeção de formalina.

A naloxona foi usada para avaliar o envolvimento do sistema opioide sobre o efeito antinociceptiva do OECA. Os camundongos receberam naloxona (5mg/kg i.p.) 20 minutos antes de receberem o OECA (400 mg/kg v.o.) e Morfina (10 mg/kg i.p.) em ambas as fases do teste de Formalina.

4.9 Avaliação da atividade anti-inflamatória

4.9.1 Teste de bolsa de ar

A atividade anti-inflamatória foi avaliada de acordo como protocolo descrito por Tao et al.,(1999). Inicialmente os ratos foram anestesiados e a região dorsal intraescapular foi tricotomizada. Receberam 20 mL de ar estéril subcutâneo na região tricotomizada para formação da bolsa no dia 0, no 3º dia os ratos receberam mais 10 mL de ar estéril, repetindo este procedimento também no 6º dia. No 9º dia os animais receberam por via oral o tratamento com OECA (10, 100 e 400 mg/kg v.o), Dexametasona (0,6 mg/kg) e veículo. Após 1h, a inflamação foi induzida pela injeção de 2 mL de solução de carragenina 1% dentro da bolsa de ar. Decorrido 16h os animais foram eutanasiados com superdose de anestésico, as bolsas foram lavadas com 1 mL de solução tampão contendo NaCl (130 mM), Na₂PO₄ (5 mM) e KH₂PO₄ (1 mM) e heparina (20 IU/mL) diluídos em água destilada. O exsudato foi coletado da bolsa ar com uma pipeta Pasteur estéril, imediatamente após abertura da bolsa. O volume foi mensurado pela diferença do volume total coletado, menos 1 ml de solução tampão administrado para lavar a bolsa. Para contagem de leucócitos totais foi usado contador hematológico (Auto Hematology Analyzer BC-2800 VET, henchen Mindray Bio-Medicaelectronic CO Ltda., Hamburger, Germany).

4.9.2 Teste de azul de Evanz

Este modelo experimental baseia-se no protocolo descrito por Whittle (1964), no qual induz o processo inflamatório com a injeção intraperitoneal de ácido acético a 0,6%. O azul de Evanz, administrado via intravenosa se liga com a albumina plasmática formando um complexo corante-albumina que extravasa para o líquido peritoneal em consequência do aumento da permeabilidade vascular provocado pelo processo inflamatório, a quantidade de corante extravasado é então quantificada por métodos colorimétricos.

Foram utilizados 6 grupos de camundongos (n=5). No qual receberam tratamentos: G1: Salina, G2: veículo, G3: Indometacina (10 mg/kg), G4: OECA (10 mg/kg), G5: OECA (100 mg/kg), G6: OECA (400 mg/kg). Após 1 hora, os animais receberam ácido acético 0,6% i.p. em volume de 0,1 ml a cada 10g de peso animal. Uma solução de azul de Evans 1% i.v. em volume de 0,1 ml a cada 10g de peso animal foi injetada 30 minutos antes da administração do ácido acético. Vinte minutos após o tratamento com ácido acético os animais foram anestesiados e sacrificados por deslocamento cervical e tiveram posteriormente os peritônios lavados com cinco mL de água destilada. Em seguida, foram coletados quatro ml do lavado peritoneal e transferido para um tubo falcon, centrifugado por 10 min a 1.500 r.p.m. e transferidas para placas de 96 poços para determinar a absorbância 620 nm, utilizando o espectrofotômetro (Microplate Reader, Serial No. N/S20175703).

4.10 Análise estatística

A análise estatística foi realizada no programa Graph Pad Prism 5.0 (Prim software, Irvine, CA, USA). O resultado foi expresso como a média +/- desvio padrão. Análise de variância (ANOVA two-way) foi aplicada para avaliar a significância estatística das diferenças entre os grupos de estudo. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado como critério para significância estatística.

5 RESULTADOS

5.1 Composição química do OECA

O óleo essencial dos rizomas da *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L. foi obtido por hidrodestilação com rendimento de 0,9%. Na análise em CG-EM identificou-se 40 componentes (tabela 4) correspondendo a 88,43 % dos constituintes presente no OECA. A mustacona (10,65%) é o componente majoritário seguida por β -selineno (8,45%) ciclocolorenona (6,99%) e α -copaeno (6,57%). Os demais componentes estão listados na tabela 4.

Tabela 4: Composição química do óleo essencial dos rizomas da *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L avaliado por CG-EM.

t _R (min)	IR	Identificação	% rel.
5,54	933	α -pineno	4,85
6,05	953	tuja-2,4(10)-diene	0,56
6,66	977	β -pineno	1,94
8,08	1024	ρ -cimeno	0,83
8,21	1028	Limoneno	0,49
9,70	1071	trans-epoxi-ocimeno	2,12
10,35	1090	ρ -cimeneno	1,47
12,26	1139	trans-pinocarveol	3,08
12,64	1148	n.i.	0,69
13,39	1167	para-menta-1,5-dien-8-ol	1,33
14,37	1191	alfa-terpineol	1,19
14,62	1198	Mirtenol	4,21
15,11	1209	Verbenona	2,77
21,66	1366	Ciclosativeno	0,69
22,06	1375	α-copaeno	6,57
22,99	1398	Cipereno	3,29
23,25	1404	cis-tujopsadieno	2,79
25,38	1457	Rotundeno	2,06
26,00	1473	isolongifolene, 4,5-dehydro	1,32
26,12	1476	δ -cadineno	2,28
26,53	1486	β-selineno	8,45
27,01	1498	cycloisolongifolene,8,9-dehydro	2,45
27,29	1505	α -bulneseno	2,38
27,61	1513	M = 202	0,86
27,96	1523	trans-calameneno	2,52
28,32	1532	M = 220	2,40
28,42	1534	M = 220	1,72
28,73	1542	α -calacoreno	2,63
29,04	1550	M = 220	0,90
29,69	1567	M = 220	1,41
30,20	1581	óxido de cariofileno	1,28

30,62	1591	β -copaen-4- α -ol	1,12
31,46	1614	epóxido de humuleno	1,19
33,29	1664	M = 218	1,66
33,61	1672	M = 222	0,92
33,84	1679	Mustacona	10,65
34,36	1693	Ciperotundona	1,49
34,91	1708	cis-tujopseno	3,44
35,91	1737	M = 234	1,04
36,36	1750	Ciccolorenona	6,99
Total de constituintes identificados			88.43%

tr = Tempo de retenção; IR = Índice de retenção; M = Massa molecular; % rel= Porcentagem relativa

5.2 Ensaio de toxicidade oral aguda do OECA

Na avaliação da toxicidade oral aguda não ocorreu morte e também não foram observados sinais de toxicidade no grupo testado nem em ratos e nem em camundongos com dose de 2.000 mg/kg do OECA. No grupo controle não foram observados morte ou sinais de toxicidade. Em relação à massa corporal, não houve diferença significativa entre os grupos controle e OECA 2.000 mg/kg de ratos e camundongos após 7 e 14 dias de observação (gráfico 1).

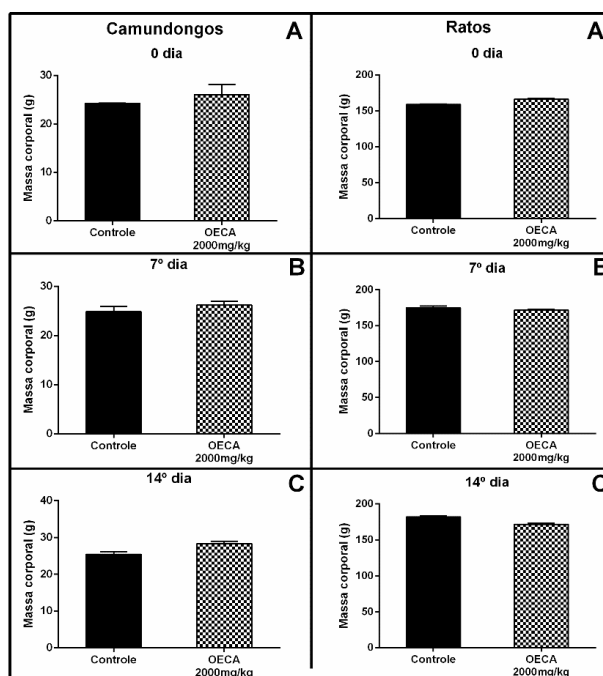


Gráfico 1: Avaliação da toxicidade oral aguda em ratos e camundongos, os gráficos A, B e C a esquerda correspondem aos 0, 7º e 14º dia em que foi pesado os camundongos. Os gráficos A, B e C a direita correspondem aos 0, 7º e 14º dia em que foram avaliados os pesos dos ratos durante 14 dias de observação no teste de toxicidade oral aguda. Cada coluna representa média \pm DP (n=3), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo tratado com OECA (2.000 mg/kg) e o grupo controle. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.

Com base nos critérios de classificação estabelecidos pelo protocolo, no qual não houve morte e nenhum animal apresentou sinais de toxicidade na dose de 2.000 mg/kg, permite classificar o OECA como produto com baixa grau de toxicidade aguda, com dose tóxica superior a 2.000 mg/kg. No entanto ensaios de toxicidade subcrônico e crônico precisam ser realizados para avaliar a toxicidade total do OECA. Assim determinamos as doses correspondentes à 1/200, 1/20 e 1/5, equivalente a 10, 100 e 400 mg/kg respectivamente, para serem testadas na avaliação da atividade anti-inflamatória e antinociceptiva.

5.3 Estudo da atividade antinociceptiva

5.3.1 Teste de placa quente

O OECA na dose de 100 mg/kg prolongou significativamente o tempo de latência nos tempos 60, 90 e 120 minutos, em 47%, 50% e 44%, respectivamente. A dose de 400 mg/kg do OECA foi mais efetiva prolongando esse tempo em 68%, 67% e 52%, respectivamente. A morfina (10 mg/kg), usada como fármaco padrão, também prolongou significativamente o tempo de latência nos tempos 30, 60, 90 e 120 minutos, em 65%, 84%, 78% e 53%, respectivamente quando comparado ao grupo controle (Gráfico 2).

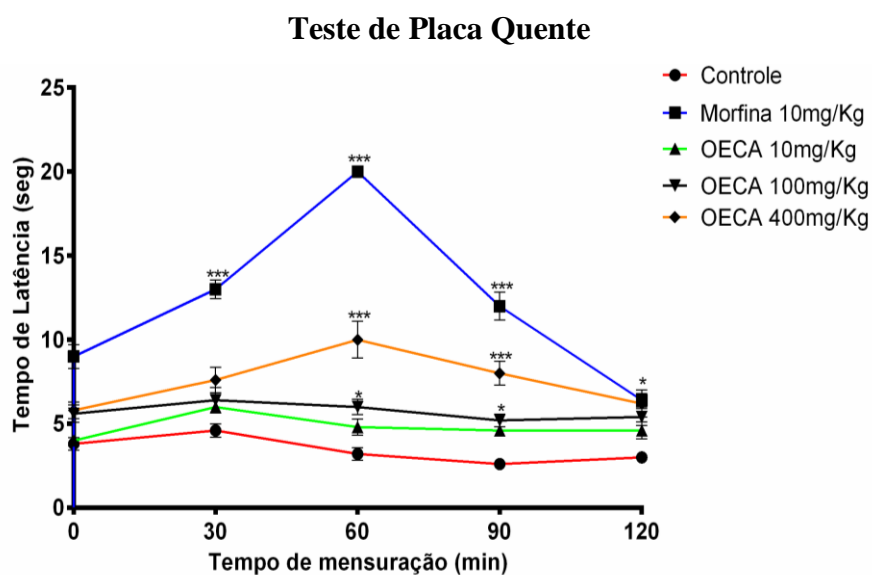


Gráfico 2: Efeito do OECA sobre a nocicepção induzida no teste de placa quente em camundongos. Cada ponto representa média \pm DP. (n=5), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.

5.3.2 Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético

O tratamento com OECA nas doses de 10, 100 e 400 mg/kg reduziu significativamente o número de contorções abdominais em 24%, 39% e 50% quando comparados ao grupo controle. A indometacina na dose de 5 mg/kg, utilizada como fármaco padrão, também inibiu significativamente o número de contorções abdominais em 67% quando comparado ao grupo controle (Gráfico 3).

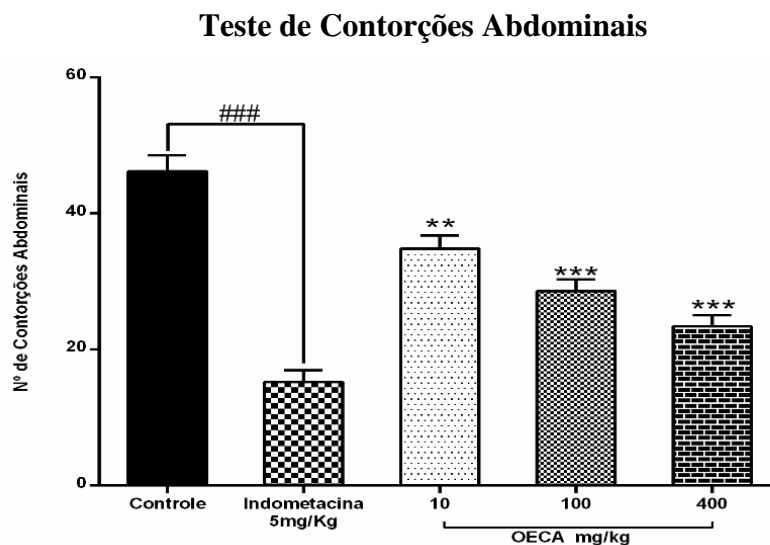


Gráfico 3: Efeito do OECA (10, 100 e 400 mg/kg v.o) sobre as contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos. Cada coluna representa média \pm DP (n=5), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.

5.3.3 Teste de Formalina

O OECA nas doses de 100 e 400 mg/kg inibiu significativamente o tempo de lambida de pata na primeira fase em 42% e 53 % respectivamente, quando comparada ao grupo controle. A morfina na dose de 10 mg/kg, usada como fármaco padrão, reduziu 77% em relação ao grupo controle (Gráfico 4).

Teste de Formalina – 1ª fase

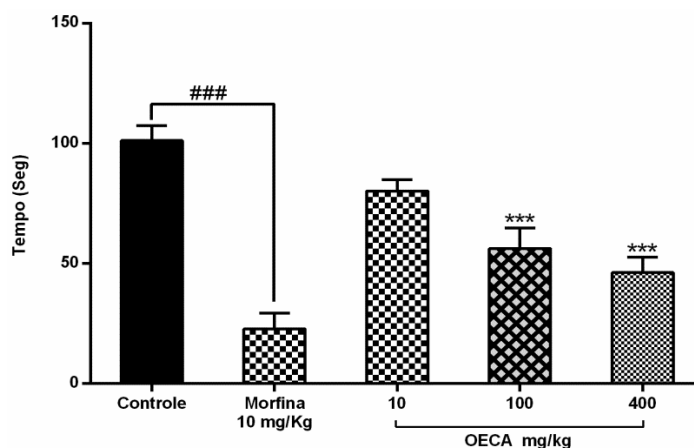


Gráfico 4: Efeito do OECA (10, 100 e 400 mg/kg v.o) sobre o tempo de lambida de pata induzida por formalina 2,5% na 1ª fase do teste de formalina. Cada coluna representa média \pm DP (n=5). *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.

Na segunda fase do teste O OECA nas doses de 100 e 400 mg/kg inibiu significativamente o tempo de lambida de pata em 42% e 52 % respectivamente, quando comparada ao grupo controle. A morfina (10 mg/kg) usada como fármaco padrão, reduziu 76% em relação ao grupo controle (Gráfico 5).

Teste de Formalina – 2ª fase

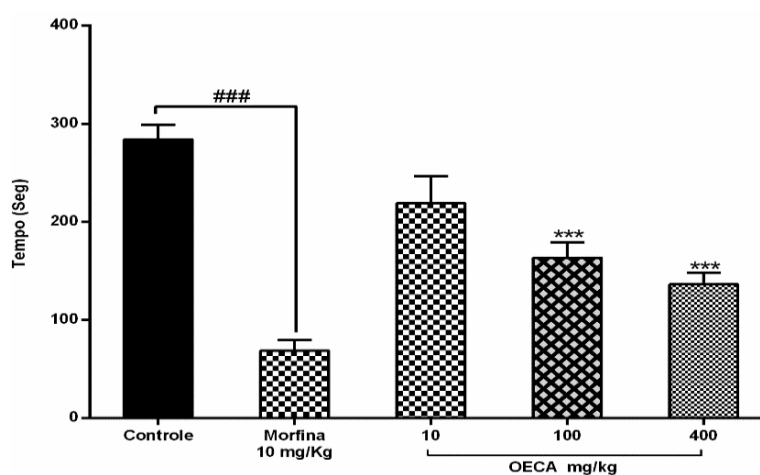


Gráfico 5: Efeito do OECA (10, 100 e 400 mg/kg v.o) sobre o tempo de lambida de pata induzida por formalina 2,5% na 2ª fase do teste de formalina. Cada coluna representa média \pm DP (n=5). *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.

5.3.4 Teste de Formalina (Antagonista opioide naloxona)

A naloxona na dose de 5 mg/kg inibiu o efeito antinociceptivo da morfina e do OECA (400 mg/kg) sobre a nocicepção induzida por formalina diminuindo o tempo de lambida de pata nos camundongos em ambas as fases do teste (Gráfico 6 e 7).

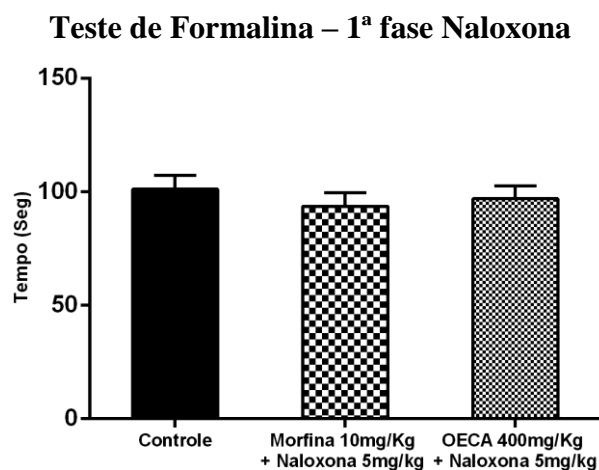


Gráfico 6: Efeito da naloxona sobre a ação antinociceptiva do OECA (400 mg/kg v.o) e da Morfina (10 mg/kg i.p) na 1ª fase do teste de formalina. Cada coluna representa média \pm DP, (n=5). *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.

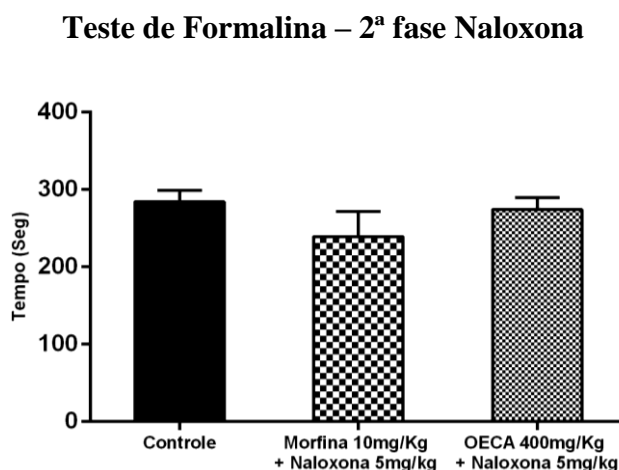


Gráfico 7: Efeito da naloxona sobre a ação antinociceptiva do OECA (400 mg/kg v.o) e da Morfina (10 mg/kg i.p) na 2ª fase do teste de formalina. Cada coluna representa média \pm DP, (n=5). *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.

5.4 Estudo da atividade anti-inflamatória

5.4.1 Teste de bolsa de ar (migração de leucócitos)

O OECA nas doses de 100 e 400 mg/kg diminuiu significativamente em 16% e 23 % respectivamente a migração de leucócitos totais para o sítio inflamatório, quando comparado ao grupo controle. A Dexametasona (0,6 mg/kg), usada como fármaco padrão, reduziu a migração de leucócitos em 82% quando comparado ao grupo controle (Gráfico 8).

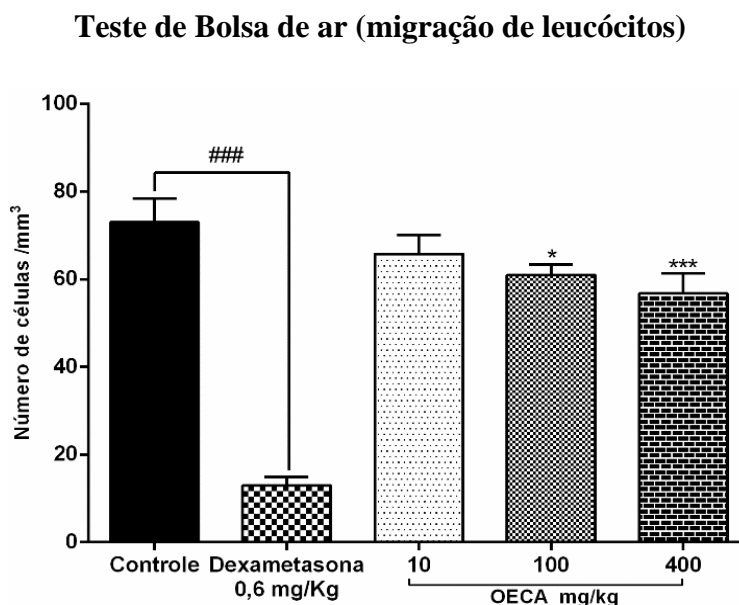


Gráfico 8: Efeito do OECA e Dexametasona (0,6 mg/kg v.o) sobre a migração de leucócitos para o sítio inflamatório induzido por carragenina 1%. Cada coluna representa média \pm DP. (n=5), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.

5.4.2 Teste de bolsa de ar (permeabilidade vascular)

O OECA nas doses de 10, 100 e 400 mg/kg reduziu significativamente o volume de exsudato no sítio inflamatório em 16%, 20% e 32% respectivamente, quando comparado ao grupo controle. A Dexametasona usada como droga padrão, reduziu significativamente em 76% o volume de exsudato em relação ao grupo controle (Gráfico 9).

Teste de bolsa de ar (permeabilidade vascular)

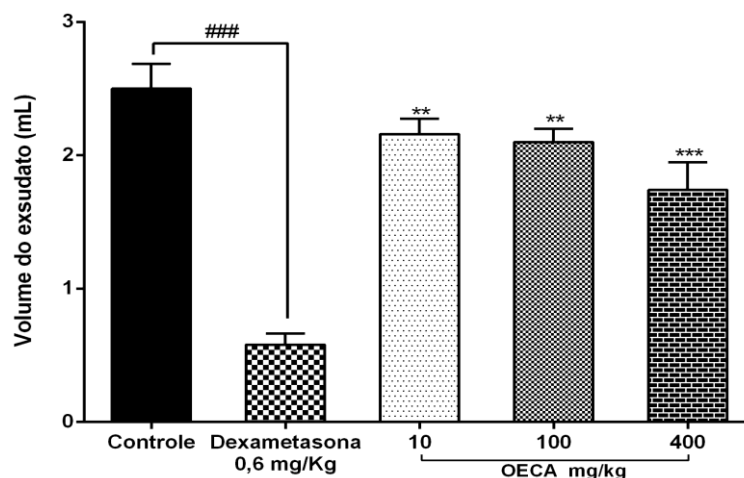


Gráfico 9: Efeito do OECA e Dexametasona sobre a permeabilidade vascular induzida por carragenina. Cada coluna representa média \pm DP. (n=5), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ### indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.

5.4.3 Teste de azul de Evanz (permeabilidade vascular)

O OECA nas doses de 100 e 400 mg/kg diminuiu significativamente a concentração do corante azul de evanz extravasado para o líquido do peritônio em 14% e 40%, respectivamente quando comparado ao grupo controle. A Indometacina, usada como fármaco padrão, diminuiu significativamente em 43% em relação ao grupo controle (Gráfico 10).

Teste de Azul de Evanz (permeabilidade vascular)

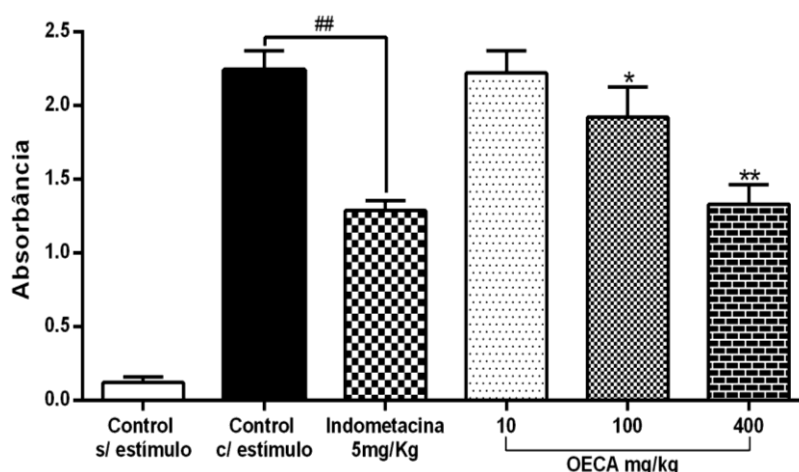


Gráfico 10: Efeito do OECA e Indometacina sobre a permeabilidade vascular induzida por ácido acético no teste de azul de evanz. Cada coluna representa média \pm DP. (n=5), *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com OECA. ## indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com o fármaco padrão. ANOVA One-way, Teste de Múltipla Comparação de Newman-Keuls.

6 DISCUSSÃO

As plantas medicinais são fontes promissoras para pesquisa de novas substâncias com propriedades farmacológicas úteis para diferentes patologias (MAROON; BOST; MAROON, 2010). Observamos que óleo essencial da *Cyperus articulatus var. nodosus L.* apresenta em sua composição química componentes majoritários como a mustacona (10,65%), β -selineno (8,45%) ciclocolorenona (6,99%) e α -copaeno (6,57%). No ensaio de toxicidade oral demonstra ser uma substância de baixo grau de toxicidade aguda, mostrou ainda ter propriedade antinociceptiva e anti-inflamatória.

Óleos essenciais são utilizados como aditivo e conservante pela indústria de alimentos (MISAGHI e BASTI, 2007), indústria de cosméticos e indústria farmacêutica (BANDONI, 2003). Em nosso estudo, a extração do OECA pelo método de hidrodestilação por arraste a vapor resultou em um rendimento percentual de 0,9%. Resultado que se assemelha aos dados da pesquisa realizado por Zoghbi et al. (2006), no qual realizou a extração do óleo de *Cyperus articulatus* utilizando o mesmo método e observaram um rendimento de 0,9 a 1,6%.

O óleo essencial aplicado à indústria farmacêutica é constituído basicamente de terpenos (SIMÃO, 2016). Conforme a tabela 1, a qual representa a análise da composição química do óleo essencial de *Cyperus articulatus var. nodosus L.* Foram identificando um total de 40 compostos, dentre estes destaca-se os constituintes sesquiterpenos, monoterpênicos e cetonas sesquiterpênicas. Os constituintes com maior concentração foram a mustacona (10,65%), β -selineno (8,45%), ciclocolorenona (6,99%) e α -copaeno (6,57%), é importante ressaltar que a mustacona é o principal composto sesquiterpênico presente no OECA, e esta molécula é o marcador biológico da *Cyperus articulatus* (TONGNUANCHAN; BENJAKUL, 2014). Observando o estudo realizado por Nyasse et al (1988), esses autores identificaram a presença de compostos sesquiterpênicos no extrato dos rizomas da *Cyperus articulatus*, e a mustacona presente em maior concentração dentre os constituintes. Na pesquisa de Zoghbi et al., (2006) a mustacona também foi identificada como composto de maior concentração variando de 7,3 a 14,5% em amostras obtidas de rizomas de *Cyperus articulatus* de diferentes localidades, o α -copaeno e β -selineno também foram identificados.

Mattoso (2005) estudou o óleo essencial de *Cyperus articulatus* var. *nodosus*., obtido pelo processo de hidrodestilação a vapor identificando a presença de cinco compostos semelhantes aos encontrados em nossa pesquisa, sendo o α -pineno que pertence à classe de (hidrocarboneto monoterpênicos), e os (hidrocarbonetos sesquiterpênicos) α -copaeno, cipereno, β -selineno e α -calacoreno. Tais resultados demonstram a semelhança na composição química do OECA com os dados disponíveis na literatura.

Diversos estudos comprovaram as propriedades farmacológicas dos sesquiterpenos. No estudo de Rukunga et al (2008), os qual avaliaram os compostos sesquiterpênicos (corimbolona e mustacona) do extrato clorofórmio dos rizomas de *Cyperus articulatus* L., observaram propriedades anti-plasmódicas, vale ressaltar que a mustacona foi dez vezes mais efetiva quando comparado a corimbolona. Afoulous et al (2013) estudaram o óleo essencial da *Cedrelopsis greveino*, no qual observaram importante efeito anti-inflamatório, tal efeito foi atribuído aos monoterpênicos e sesquiterpenos presente na composição química desta espécie.

O ensaio de toxicidade é fundamental para o uso seguro de qualquer substância, torna-se necessário na pesquisa de substâncias para o desenvolvimento de novos medicamentos. De acordo com Almeida (2006) toda substância apresenta capacidade de ser tóxica, depende apenas da dose administrada ou absorvida, do tempo e frequência de exposição e das vias de administração utilizada.

O estudo de toxicidade oral aguda avalia os efeitos adversos causados pela interação entre a substância química e o organismo vivo. Através de modificações bioquímicas, morfológicas e fisiológicas o organismo vivo pode se adaptar as condições adversas e não manifestar sinais de toxicidade. Entretanto, quando o organismo não consegue se adaptar as condições adversas, expressam os sinais de toxicidade. Portanto, o ensaio de toxicidade define o potencial de uma substância causar danos à saúde humana (LUIZ, 2016).

No presente estudo não observamos mortes ou sinais clínicos de toxicidade como (alterações de pele, olhos, mucosas, diarreia, letargia, aumento na salivação, perda de peso) nas doses utilizadas. Portanto, a administração oral do óleo essencial de *Cyperus articulatus* var. *nodosus* não provocou alterações no funcionamento do organismo na dose de 2.000 mg/kg, ou seja, a dose segura é inferior a 2.000 mg/kg, sendo classificada como substância de baixa toxicidade OECD (2001).

Corroborando com os dados encontrados em nossa pesquisa, Iman et al. (2014) avaliaram a toxicidade aguda da *Cyperus rotundus*, no qual observaram que a dose segura é inferior a 3.000 mg/kg, classificando-a como substância de baixa toxicidade. Alam et al., (2011) avaliou a toxicidade do extrato metanólico da folha de *Cyperus scariosus* e também observaram que a dose segura é inferior a 3.000 mg/kg, classificando-a também como substância de baixa toxicidade. Estas espécies mencionadas pertencem ao mesmo gênero do vegetal estudado em nossa pesquisa. Não encontramos na literatura nenhum trabalho que demonstre a toxicidade aguda da *Cyperus articulatus* var. *nodosus*.

A atividade antinociceptiva do OECA foi testada em modelos de nocicepção química (teste de contorções abdominais induzido por ácido acético, teste de formalina) e térmico (teste da placa quente). O uso de diferentes modelos nociceptivos é importante na avaliação antinociceptiva de qualquer substância pois simulam diferentes tipos de dor e avaliam diferentes vias do mecanismo de ação da substância em estudo (BERGEROT et al., 2006).

O gráfico 2, demonstra o efeito antinociceptivo do OECA sobre o teste de placa quente. Observamos que o OECA foi capaz de prolongar significativamente o tempo de latência dos animais frente ao estímulo térmico, em relação ao grupo controle. A morfina (10 mg/kg), usada como fármaco padrão, também prolongou significativamente o tempo de latência. Os dados da pesquisa realizada por Imam, M. Z; Sumi, C. D. (2014) corrobora com o resultado obtido em nossa pesquisa, no qual avaliaram a atividade antinociceptiva do extrato hidrometanólico da *Cyperus rotundus* (50, 100 e 200 mg/kg) e observaram a capacidade de prolongar significativamente o tempo de latência dos animais frente ao estímulo térmico.

O teste da placa quente avalia substâncias que agem a nível do sistema nervoso central, como as substâncias opióides (ONG et al., 2011). A nível molecular ocorre a ativação dos nociceptores (fibras C não mielinizadas) na qual conduzem o estímulo doloroso até a medula espinhal, em seguida até o córtex cerebral produzindo uma resposta nociceptiva (SAŁAT et al., 2017).

De acordo com os dados apresentados no gráfico 3, observamos que o OECA foi capaz de inibir significativamente o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético em relação ao grupo controle de modo que a dose de 400 mg/kg as contorções foram inibidas em 50%. Os resultados também demonstra que a Indometacina (AINE) inibidora da

COX, inibiu significativamente o número de contorções em 67% em relação ao grupo controle.

Corroborando com os dados encontrados em nossa pesquisa Alam et al. (2011), avaliou a atividade antinociceptiva do extrato metanólico da folha de *Cyperus scariosus* na dose de 200 mg/kg e observou um efeito antinociceptivo reduzindo de forma significativa o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Salvadori (2013), investigou a ação antinociceptiva do (-)-miternol na dose de 100 mg/kg sobre a nocicepção induzida no teste de contorções abdominais, e observou um efeito antinociceptivo reduzindo o número de contorções abdominais em 98,7% em relação ao grupo controle.

A injeção de ácido acético provoca uma irritação no peritônio na qual os animais manifestam a nocicepção através da contração abdominal e pelo alongamento das patas traseiras. O efeito nociceptivo do ácido acético é resultado dos prótons oriundos da dissociação do ácido acético, logo ativam diretamente os canais iônicos localizados nas fibras aferentes primárias (nociceptores), ou induzem a produção de mediadores como as aminas vasoativas, peptídeos vasoativos, citocinas, quimiocinas e outros. Estes mediadores promovem a ativação ou sensibilização dos nociceptores (FENG; CUI; WILLIS, 2003). Os AINEs como a Indometacina atuam inibindo a ação das ciclo-oxigenases (COX-1 e COX-2) responsáveis pela síntese de diferentes tipos de eicosanoides como a (PGD₂, PGE₂, PGI₂, TXA₂) os quais medeiam o processo inflamatório sensibilizando os nociceptores para condução do estímulo doloroso ao SNC (UNGPRASERT et al., 2016). Não estudamos o mecanismo de ação do OECA, contudo podemos inferir que seu mecanismo de ação possa ser semelhante ao mecanismo de ação do fármaco padrão Indometacina.

Os dados apresentados nos gráficos 4 e 5 demonstram que o OECA (100 e 400 mg/kg), foi capaz de diminuir significativamente o tempo de lambidas da pata estimulada com formalina em ambas as fases, corroborando com os resultados obtidos no teste de contorção abdominal. A morfina utilizada como fármaco padrão também reduziu significativamente o tempo de lambida da pata estimulada com formalina em ambas às fases. Os gráficos 6 e 7 demonstram que os efeitos antinociceptivos do OECA e da morfina foram antagonizados pela naloxona, confirmando a participação da via opioide na atividade do OECA, visto que seu efeito foi antagonizado pela naloxona. Em 2014, Imam et al avaliaram a atividade

antinociceptiva do extrato metanólico da *Cyperus rotundus* nas doses (50, 100 e 200 mg/kg) e observaram um efeito antinociceptivo em ambas as fases do teste.

A primeira fase do teste ocorre durante os primeiros cinco minutos após a injeção intraplantar de formalina, a nocicepção resulta de estímulo direto nas fibras aferentes (fibra C) e conseqüente liberação de substância P e bradicinina. Ocorre uma interfase de dez minutos caracterizada por uma redução da nocicepção devido à ativação de mecanismos moduladores. A segunda fase ocorre entre 15 a 30 minutos após a injeção intraplantar de formalina, caracteriza-se pela liberação de mediadores inflamatórios como as citocinas (TNF- α e IL-1 β), aminas vasoativas (histamina e serotonina) derivados do ácido araquidônico, óxido nítrico e outros que sensibilizam a vias periféricas e centrais de condução da dor (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

O mecanismo de ação de fármacos antinociceptivos é baseado na interação entre fármacos e receptores específicos no sistema nervoso. Na investigação do mecanismo de ação das substâncias opioides utiliza-se fármacos antagonistas (ex. naloxona) que bloqueiam os efeitos decorrentes da ativação do receptor específico, impedindo que os fármacos antinociceptivos (ex. morfina) possam se ligar e promover seu efeito agonista antinociceptivo (KATZUNG, B. G.; TREVOR, A. J, 2017). O mecanismo de ação do OECA na inibição da dor central pode estar acontecendo de forma análoga ao mecanismo da morfina, visto que, a naloxona também reverteu seu efeito antinociceptivo.

Todos os receptores opioides (μ , δ e κ) estão acoplados a proteína G inibitória, e encontram-se no sistema nervoso central e periférico nas terminações de neurônios aferentes primários. A ativação destes receptores promove a inibição da atividade da enzima adenililciclase, responsável pelo aumento dos níveis intracelulares de AMPc. A inibição desta enzima resulta no bloqueio da entrada de cálcio e abertura dos canais de potássio ocorrendo uma hiperpolarização da célula, neste estado a célula não libera os neurotransmissores excitatórios responsáveis pela transmissão da dor (GOLAN et al. 2014).

O efeito anti-inflamatório do OECA foi avaliado através dos testes Bolsa de ar e Azul de evanz, estes testes avaliam fenômenos característicos que ocorrem diante de um processo inflamatório, a migração de células (leucócitos) e o aumento da permeabilidade

vascular. O estímulo nocivo provoca uma cascata de eventos envolvendo mediadores inflamatórios que resulta em alterações vasculares e celulares.

Conforme demonstrado nos gráficos 8 e 9 o OECA (100 e 400 mg/kg) reduziu significativamente a migração de células e o volume de exsudato extravasado do sangue respectivamente para o sítio inflamatório (bolsa de ar). No gráfico 10, o OECA (100 e 400 mg/kg) reduziu significativamente a concentração do corante Azul de evanz extravasado para o líquido peritoneal. A droga padrão (dexametasona), utilizada nos testes Bolsa de ar e Azul de evanz, também reduziu significativamente a migração de células e o volume de exsudato extravasado do sangue para o sítio inflamatório.

Os dados da nossa pesquisa corroboram com a pesquisa realizada por Mohamed-Ibrahim et al., (2018) na qual avaliaram a atividade anti-inflamatória do extrato metanólico dos rizomas de *Cyperus rotundus*, e observaram importante efeito anti-inflamatório atribuído a inibição da síntese dos mediadores (prostaglandinas, serotoninas e histamina). Foi possível verificar que o OECA reduziu significativamente o volume de exsudato e a quantidade de células no sítio inflamatório, contudo não temos evidências suficientes para afirmar quais mediadores foram responsáveis por estes eventos. Portanto, estudos adicionais são necessários para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos no efeito anti-inflamatório do OECA.

O processo inflamatório se inicia como uma resposta vascular caracterizada por aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade vascular no local lesionado, as alterações no endotélio são facilmente observadas com exsudação de proteínas plasmática e líquido do sangue para o tecido, seguida pela migração de leucócitos (KUMAR et al., 2015). As células residentes (macrófagos, células dendríticas, linfócitos, células endoteliais, fibroblastos e mastócitos) presentes no tecido, quando estimulados, sintetizam e liberam mediadores solúveis (quimiocinas, citocinas, radicais livres, aminas vasoativas e eicosanoides), tais mediadores aumentam a permeabilidade vascular, levando ao extravasamento de plasma que contém anticorpos, proteínas do complemento necessário para opsonizar bactérias e diluir o estímulo inflamatório (MEDZHITOV, 2010; MORI et al., 2011).

O agente nocivo provoca a produção de vários mediadores inflamatórios, dentre eles a PGE₂, uma das funções desta prostaglandina é promover a contração das células endoteliais aumentando a permeabilidade vascular e o fluxo de plasma do sangue para o tecido

inflamado. As prostaglandinas são sintetizadas através das enzimas ciclooxigenases (COXs). A COX-1 é expressa na maioria dos tecidos, enquanto a COX-2 é induzida por estímulos nocivos (YAO et al., 2018). A bradicinina é outro mediador importante na resposta inflamatória, age nos receptores B1 e B2 presentes nas células endoteliais, provocando vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular (PIETROVSKI et al., 2011).

A migração de leucócitos envolve uma cascata de eventos como a marginalização, rolamento, adesão e transmigração para o tecido inflamado. A migração de leucócitos é resultado da alteração ocorrida na superfície do endotélio provocada por mediadores como (histamina, leucotrienos e citocinas), estes são liberados quando as células residentes reconhecem o patógeno presente no tecido. As citocinas (TNF- α e IL-1 β), os PAMPs e outros mediadores ativam as células endoteliais que passam a expressar moléculas de adesão, além de sintetizarem quimiocinas (SUMMERS et al, 2010). As moléculas de adesão (selectinas) promove a interação física entre os leucócitos e as células endoteliais, fenômeno conhecido como marginalização dos leucócitos. Após a marginalização ocorre o rolamento dos leucócitos sobre o tecido endotelial mediado também por selectinas e seus receptores. Em resposta ao gradiente quimioatraente os leucócitos entram na etapa de adesão mediada pelas integrinas que se ligam as moléculas de adesão celular (VCAM-1) presentes nas células endoteliais, os leucócitos transmigram e seguem um gradiente de quimiocinas até o local lesionado (KIM; MOUDGIL, 2017).

O processo inflamatório apresenta uma relação importante com a via de sinalização do fator nuclear kappa B (NF-kB), o qual é responsável pela regulação e codificação de vários genes pró-inflamatórios como as citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão e proteínas de fase aguda, ciclo-oxigenase induzida e iNOS. Nas células não estimulada, o NF-kB fica inativo no citoplasma em um complexo I κ B-NF-kB. Esta via de sinalização é ativada por estímulos inflamatórios (LPS, citocinas e outros) que promovem a fosforilação do I κ B resultando na dissociação do complexo I κ B-NF-kB, logo ocorre a migração do NF-kB para o núcleo da célula para codificar e expressar os genes pró-inflamatórios e consequentemente a síntese destes mediadores inflamatórios (SIBI; RABINA, 2016).

A dexametasona, fármaco padrão usado na pesquisa, é um glicocorticoide que atua em várias vias de sinalização, inclusive a via do fator nuclear Kappa B. Ativa o fator nuclear kappa B (NF-kB) responsável por regular a expressão de vários genes responsáveis pela

produção de diferentes mediadores pró-inflamatórios, assim como de proteínas com função enzimática responsáveis pela síntese de novos mediadores. Além disso, atua também na inativação da fosfolipase A₂, reduzindo o efeito pró-inflamatório dos mediadores produzidos a partir do ácido araquidônico (LAW et al., 2015; WESTERGAARD et al., 2015). Apesar de não termos avaliado o mecanismo de ação do OECA, é possível inferir que o OECA possa agir em vias semelhantes à dexametasona. Contudo, são necessários novos estudos com o OECA para elucidar seu mecanismo de ação.

Conforme dados encontrados na literatura, a *Cyperus articulatus* é empregada em grande escala na indústria de cosmético. A espécie do gênero *Cyperus* mais estudada quanto as suas propriedades farmacológicas é a *rotundus*. Apesar da ausência de estudos direcionados as propriedades farmacológicas (analgésica e anti-inflamatória), a *Cyperus articulatus* var. *nodosus* já é usada empiricamente para fins terapêuticos, em nossa pesquisa foi possível confirmar cientificamente o efeito anti-inflamatório e antinociceptivo do OECA, servindo de base para futuras pesquisas que buscam o desenvolvimento de novos fármacos com estas propriedades encontradas.

7 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos podemos concluir que:

- ✓ O OECA é constituído, principalmente, de sesquiterpenos e monoterpenos.
- ✓ O OECA apresenta dose segura quando administrado em doses inferior a 2.000 mg/kg por via oral.
- ✓ O OECA apresenta atividade antinociceptiva aumentando o limiar da dor.
- ✓ O OECA age em mecanismo de ação semelhante ao da Morfina sobre a nocicepção.
- ✓ O OECA apresenta atividade anti-inflamatória diminuindo o volume de exsudato no sítio inflamado em consequência da diminuição da permeabilidade vascular e diminuição da migração de leucócitos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELLA, V. et al. Leptin in the interplay of inflammation, metabolism and immune system disorders. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 13, n. 2, p. 100–109, 5 fev. 2017.
- AFOULOUS, S. et al. Chemical composition and anticancer, antiinflammatory, antioxidant and antimalarial activities of leaves essential oil of *Cedrelopsis grevei*. **Food Chem Toxicol**, v. 56, p. 352–62, Jun 2013.
- ALAM, M. A. et al. Antinociceptive and anti-hyperglycemic activity of methanol leaf extract of *Cyperus scariosus*. **Pak. J. Pharm. Sci.**, v. 24, n. 1, p. 53–56, 2011.
- ALENCAR, M. M. A.; ROCHA, M. F. G.; PINHEIRO, D. C. S. N. Inflamação e sua modulação por anti-inflamatórios não esteróides: riscos e benefícios. **Ciência Animal**, v. 15, n. 1, p. 33–41, 2005.
- ALLER, M. A. et al. The inflammatory response: an efficient way of life. **Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research**, v. 12, n. 10, p. 225–234, 2006.
- ALLEY, W. E.; MURPHY, W. J.; RUSSELL, S. W. A. Classical enhancer element responsive to both lipopolysaccharide and interferon and interferon- γ augments induction of the iNOS gene in mouse macrophages. **Gene**, v. 158, n. 2, p. 247–225, 1995.
- ALMEIDA, R. N. D. *Psicofarmacologia - Fundamentos práticos*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2006.
- ALMEIDA, T. F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. v. 1000, p. 40–56, 2004.
- Al-Attas AAM, El-Shaer NS, Mohamed GA, Ibrahim SRM and Esmat A (2015). Anti-inflammatory sesquiterpenes from *Costus speciosus* rhizomes. *J. Ethnopharmacol.*, 176: 365-374.
- AMIEL, Eitan et al. β -Caryophyllene, a compound isolated from the biblical balm of gilead (*Commiphora gileadensis*), is a selective apoptosis inducer for tumor cell lines. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2012, 2012.
- ANDRADE, P. DE M. M.; CARMO, M. DAS G. T. DO. Ácidos Graxos N-3: Um Link Entre Eicosanóides, Inflamação E Imunidade. **MN-Metabólica**, v. 8, n. 3, p. 135–143, 2006.
- ANTONISAMY, P.; DURAI PANDIYAN, V.; IGNACIMUTHU, S. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of friedelin isolated from *Azimatetracantha* Lam. in mouse and rat models. **Journal of Pharmacy and Pharmacological**, v. 63, n. 1, p. 1070–1072, 2011.
- ASANOVA, Zh K. et al. Biological activity of 1, 8-cineole from levant wormwood. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 37, n. 1, p. 28–30, 2003.
- ASHLEY, Noah T.; WEIL, Zachary M.; NELSON, Randy J. Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 43, p. 385–406, 2012.

BANDEIRA-MELO, C. et al. **Signal Transduction Immunohistochemistry**. 2^a ed. New York, NY: Springer New York, 2017. v. 1554

BABU, Lingaiah Hari; PERUMAL, Srinivasan; BALASUBRAMANIAN, Maruthaiveeran Periyasamy. Myrtenal, a natural monoterpene, down-regulates TNF- α expression and suppresses carcinogen-induced hepatocellular carcinoma in rats. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 369, n. 1-2, p. 183-193, 2012.

BRABCOVÁ, E.; L. KOLESÁR, E. THORBURN, I. S. Chemokines Induced in Human Respiratory Epithelial Cells by IL-1 Family of Cytokines. **Folia Biol. (Praha)**, v. 60, p. 180–186, 2014.

BRUNE, K.; HINZ, B. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: similarities and differences. **Scand J Rheumatol**, v. 33, p. 1–6, 2004.

BUM, E. N. et al. Effects of *Cyperus articulatus* L compared to effects of anticonvulsant compounds on the cortical wedge. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, n. 1, p. 27–34, 2003.

CAMPOS, J. K. DE L. **Avaliação da atividade anti-inflamatória, antinociceptiva, antipirética e antioxidante de substâncias isoladas de sementes de *Indigofera suffruticosa* Mill.** [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2016.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F. et al. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n. 3, p. 97–106, 2005.

CARLSEN, E. D. et al. Papéis permissivos e protetores para neutrófilos na leishmaniose. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 182, n. 2, p. 109–118, 2015.

CASTELLANI, D. C. et al. Coeficientes técnicos de produção da pripiroca (*Cyperus articulatus* L.) em sistema orgânico na região de Belém (PA). **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 13, n. especial, p. 606–611, 2011.

CHANDRASEKHARAN, J. A.; SHAMA-WALIA, N. Lipoxins: nature's way to resolve inflamatio. **Journal of inflammation reseach**, v. 8, p. 181–192, 2015.

CLAUDIANO, G. DA S. **Eicosanóides no aumento de permeabilidade vascular e componente celular da inflamação aguda em *Piaractus mesopotamicus***. Jaboticabal - São Paulo, Brasil: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011.

COAN, C. M.; MATIAS, T. A utilização das plantas medicinais pela comunidade indígena de Ventarra Alta-RS. **Revista de Educação do IDEAU**, v. 8, n. 2, p. 0–13, 2013.

DAVIDSE, G.; SOUZA, M. .; CHATER, A. O. Flora Mesoamericana 6-Alismataceae a Cyperaceae. **Nordic Journal of Botany**, v. 15, n. 5, p. 512–512, 1995.

DE LA CRUZ, M. G. et al. Hot and cold: medicinal plant uses in Quechua speaking communities in the high Andes (Callejón de Huaylas, Ancash, Perú). **Journal of ethnopharmacology**, v. 155, n. 2, p. 1093–117, 11 set. 2014.

DEWANJEE, S.; DUA, T. K.; SAHU, R. Potential of anti-inflammatory effect of

Leeamacrophyla Roxb. Leaves: A wild edible plant. **Food Them toxicol**, v. 59, p. 514–520, 2013.

DJILANI, Abdelouaheb; DICKO, Amadou. The therapeutic benefits of essential oils. In: **Nutrition, well-being and health**. InTech, 2012.

DONG, Qinglei; YIN, Tieying; WANG, Guixue. Potential applications of beta-elemene in anti-atherosclerosis and anti-restenosis. **Sheng wu yi xue gong cheng xue za zhi= Journal of biomedical engineering= Shengwu yixue gongchengxue zazhi**, v. 30, n. 3, p. 656–660, 2013.

DOS SANTOS, D. A. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 543–550, fev. 2010.

DRIESSEN, B. Pain: from sign to disease. **Clin Tech Equine Pract**, v. 6, n. 2, p. 120–125, 2007.

DUNCAN, B. B. et al. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: prioridade para enfrentamento e investigação. **Revista de Saúde Pública**, v. 46, n. suppl 1, p. 126–134, dez. 2012.

DVASH, E. et al. Leukotriene C4 is the major trigger of stress-induced oxidative DNA damage. **Nature Communications**, v. 6, n. 1, p. 10112, 11 dez. 2015.

FENG, Y.; CUI, M.; WILLIS, W. D. Gabapentin markedly reduces acetic acid-induced visceral nociception. **Anesthesiology**, v. 98, n. 3, p. 729–33, mar. 2003.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G. **Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais. Curso Teórico-Prático**. 3ª ed. Lisboa, Portugal: Centro de Biotecnologia Vegetal – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, 2007.

FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 265–271, 2000.

FORERO-DORIA, O. et al. Antioxidant activity of bioactive extracts obtained from rhizomes of *Cyperus digitatus* Roxb. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 13, n. 4, p. 344–350, 2014.

FREITAS-SILVA, R. et al. Targeting Dendritic Cells as a Good Alternative to Combat *Leishmania* spp. **Frontiers in Immunology**, v. 5, 26 nov. 2014.

GHANNADI, A. et al. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Pelargonium graveolens* L'Her and *Vitex agnus-castus* L. **Iranian journal of microbiology**, v. 4, n. 4, p. 171, 2012.

GOLAN, David et al. Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia. In: **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2014.

HALLIWILL, J. R. et al. Postexercise hypotension and sustained postexercise vasodilatation: what happens after we exercise? **Experimental Physiology**, v. 98, n. 1, p. 7–18, jan. 2013.

HEADLAND, S. E.; NORLING, L. V. The resolution of inflammation: Principles and challenges. **Seminars in Immunology**, v. 27, n. 3, p. 149–160, maio 2015.

HSU, S.-W. et al. Rhodiola crenulata extract counteracts the effect of hypobaric hypoxia in rat heart via redirection of the nitric oxide and arginase 1 pathway. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, p. 29, 7 dez. 2017.

HUANG, B. et al. α -Cyperone inhibits LPS-induced inflammation in BV-2 cells through activation of Akt/Nrf2/HO-1 and suppression of the NF- κ B pathway. **Food & function**, v. 9, n. 5, p. 2735–2743, 23 maio 2018.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, n. 1, p. 103–14, jul. 1987.

IASP. **Guia para o tratamento da dor em context de poucos recursos**. Disponível em: <https://s3.amazonaws.com/rdcms-iasp/files/production/public/Content/ContentFolders/Publications2/FreeBooks/GuidetoPainManagement_Portuguese.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2016.

IMAM, Mohammad Zafar; SUMI, Chandra Datta. Evaluation of antinociceptive activity of hydromethanol extract of *Cyperus rotundus* in mice. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, n. 1, p. 83, 2014.

JAVAN, Ashkan Jebelli; JAVAN, Marjan Jebeli. Electronic structure of some thymol derivatives correlated with the radical scavenging activity: Theoretical study. **Food chemistry**, v. 165, p. 451-459, 2014.

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 203–210, 13 set. 2001.

JUNG, Seung-Hyun et al. α -Cyperone, isolated from the rhizomes of *Cyperus rotundus*, inhibits LPS-induced COX-2 expression and PGE2 production through the negative regulation of NF κ B signalling in RAW 264.7 cells. **Journal of ethnopharmacology**, v. 147, n. 1, p. 208-214, 2013.

KAUFMANN, Dorothea; DOGRA, Anudeep Kaur; WINK, Michael. Myrtenal inhibits acetylcholinesterase, a known Alzheimer target. **Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 63, n. 10, p. 1368-1371, 2011.

KATZUNG, Bertram G.; TREVOR, Anthony J. **Farmacologia Básica e Clínica-13**. McGraw Hill Brasil, 2017.

KIM, Eugene Y.; MOUDGIL, Kamal D. Immunomodulation of autoimmune arthritis by pro-inflammatory cytokines. **Cytokine**, v. 98, p. 87-96, 2017.

KOLACZKOWSKA, Elzbieta; KUBES, Paul. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 13, n. 3, p. 159, 2013.

KOSTE, R R.; ANDERSON, M.; BEER, D. E. J. Ácido acético para triagem analgésica. **Fed. Proc**, v. 18, p. 412, maio 1959.

LAW, T. Y. et al. Current concepts on the use of corticosteroid injections for knee

osteoarthritis. **Phys Sportsmed**, v. 43, n. 3, p. 269-73, Jul 2015.

LEANDRO, Lidiam Maia et al. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 3866-3889, 2012.

LEVITAN, I. B. Modulation of ION Channels by Protein Phosphorylation and Dephosphorylation. **Annual Review of Physiology**, v. 56, n. 1, p. 193–212, out. 1994.

LEITE, Fagner Carvalho et al. Avaliação da atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do alcaloide curina em modelos experimentais de inflamação aguda e nocicepção. 2012.

LIMA, E. S.; VARGAS, F. S.; POHLIT, A. M. Antioxidant, antiinflammatory and antiplatelet aggregating activities of *Maytenus guyanensis* bark extract. Latin American. **Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 1, p. 1107–1012, 20 dez. 2010.

LIU, D.; UZONNA, J. E. The early interaction of *Leishmania* with macrophages and dendritic cells and its influence on the host immune response. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 2, 2012.

LUIZ, CellenGiacomelliGroth. Avaliação da segurança alimentar do extrato de frutos do *Jaracatiá spinosa*: ensaios toxicológicos em camundongos. 2016.

LOESER, J. D.; TREEDE, R.-D. The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. **Pain**, v. 137, n. 3, p. 473–7, 31 jul. 2008.

MACDONALD, A. D. et al. ANALGESIC ACTION OF PETHIDINE DERIVATIVES AND RELATED COMPOUNDS. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v. 1, n. 1, p. 4–14, mar. 1946.

MAROON, J. C.; BOST, J. W.; MAROON, A. Natural anti-inflammatory agents for pain relief. **Surgical neurology international**, v. 1, p. 80, 13 dez. 2010.

MATTOSO, E. **Estudo de fragrâncias amadeiradas na Amazônia**. 2005. 143 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771–6, 19 mar. 2010.

MESSLINGER, K. [What is a nociceptor?]. **Der Anaesthetist**, v. 46, n. 2, p. 142–53, fev. 1997.

MISAGHI, Ali; BASTI, Afshin Akhondzadeh. Effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11778. **Food control**, v. 18, n. 9, p. 1043-1049, 2007.

MOHAMED-IBRAHIM, S. R. et al. Anti-inflammatory terpenoids from *Cyperus rotundus* rhizomes. **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v. 31, n. 4(Supplementary), p. 1449–1456, jul. 2018.

MOREIRA, N. X.; CURI, R.; MANCINI-FILHO, J. Ácidos graxos : uma revisão Fatty acids : a review. **J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 24, p. 105–123, 2002.

MORI, T. et al. IL-1 β and TNF α -initiated IL-6-STAT3 pathway is critical in mediating inflammatory cytokines and RANKL expression in inflammatory arthritis. **International immunology**, v. 23, n. 11, p. 701–12, nov. 2011.

MUIR, W. W. Anaesthesia and pain management in horses. **Equine Veterinary Education**, v. 10, n. 6, p. 335–340, dez. 1998.

MUIR, W. W.; HUBBELL, J. A. E.; DE MELLO, J. R. B. **Manual de Anestesia Veterinária**. 3^a ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2001.

MURATA, K. et al. MicroRNA-451 Down-Regulates Neutrophil Chemotaxis via p38 MAPK. **Arthritis & Rheumatology**, v. 66, n. 3, p. 549–559, mar. 2014.

MURI, E. M. F.; SPOSITO, M. M. DE M.; METSAVAHT, L. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and their local pharmacology. **Acta Fisiátrica**, v. 16, n. 4, p. 186–190, 2009.

NAKAMURA, M.; SHIMIZU, T. Leukotriene Receptors. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 10, p. 6231–6298, 12 out. 2011.

NASCIMENTO, M. S. L. et al. Interleukin 17A acts synergistically with interferon γ to promote protection against *Leishmania infantum* infection. **The Journal of infectious diseases**, v. 211, n. 6, p. 1015–1026, 15 mar. 2015.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. **Journal of natural products**, v. 66, n. 7, p. 1022–37, jul. 2003.

NYASSE, B. et al. Mandassidione and other sesquiterpenic ketones from *Cyperus articulatus*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 10, p. 3319–3321, jan. 1988.

OECD. **Guideline 423: Acute Oral Toxicity -Acute Toxic Class Method**. Disponível em: <<http://www.oecd.org/publications>>. Acesso em: 13 ago. 2014.

OLIVEIRA, Cleudaldo Soares et al. Synthetic approaches and pharmacological activity of 1, 3, 4-oxadiazoles: a review of the literature from 2000–2012. **Molecules**, v. 17, n. 9, p. 10192–10231, 2012.

ONG, H. M. et al. Antinociceptive activity of methanolic extract of *Acmella uliginosa* (Sw.) Cass. **Journal of ethnopharmacology**, v. 133, n. 1, p. 227–33, 7 jan. 2011.

PIETROVSKI, E. F. et al. B1 and B2 Kinin receptor participation in hyperproliferative and inflammatory skin processes in mice. **Journal of dermatological science**, v. 64, n. 1, p. 23–30, 2011.

PINTO, L. N. **Plantas medicinais utilizadas por comunidades do município e igarapé-miri, Pará**. Disponível em: <<http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/1863>>. Acesso em: 13 mar. 2018.

PISERA, D. Fisiologia da dor. In: **Dor Avaliação e Tratamento em Pequenos Animais**. OTERO, P. ed. São Paulo: Interbook, 2005. p. 30–74.

PORTO, C. C. **Exame clínico: Bases para a prática médica**. 5^a ed. Rio de Janeiro:

Guanabara Koogan, 2004.

PRAMOD, Kannissery; ANSARI, Shahid H.; ALI, Javed. Eugenol: a natural compound with versatile pharmacological actions. **Natural product communications**, v. 5, n. 12, p. 1999-2006, 2010.

QUINTANS-JÚNIOR, Lucindo J. GUIMARÃES, Adriana G.; QUINTANS, Jullyana SS; Monoterpenes with analgesic activity—a systematic review. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 1, p. 1-15, 2013.

RAKOTONIRINA, V. S. et al. Sedative properties of the decoction of the rhizome of *Cyperus articulatus*. **Fitoterapia**, v. 72, n. 1, p. 22–29, jan. 2001.

RAMANAN, M. et al. Transcriptional regulation of microsomal prostaglandin E synthase 1 by the proto-oncogene, c-myc, in the pathogenesis of inflammation and cancer. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 482, n. 4, p. 556–562, 22 jan. 2017.

RIELLA, K. R. et al. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 656-663, 2012.

RUKUNGA, G. M. et al. Anti-plasmodial activity of the extracts and two sesquiterpenes from *Cyperus articulatus*. **Fitoterapia**, v. 79, n. 3, p. 188-90, Abr 2008.

SACRAMENTO, L. A. et al. Toll-Like Receptor 2 Is Required for Inflammatory Process Development during *Leishmania infantum* Infection. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 262, 2017.

SALAAT, K. et al. Antinociceptive, antiallodynic and antihyperalgesic effects of the 5-HT_{1A} receptor selective agonist, NLX-112 in mouse models of pain. **Neuropharmacology**, v. 125, p. 181–188, out. 2017.

SALVADORI, M. G. DA S. S. **Mecanismo de ação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do (-) - mirtenol**. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/tede/6810>>. Acesso em: 25 mar. 2018.

SAIN, Soumyadeep et al. Beta caryophyllene and caryophyllene oxide, isolated from *Aegle marmelos*, as the potent anti-inflammatory agents against lymphoma and neuroblastoma cells. **Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)**, v. 13, n. 1, p. 45-55, 2014.

SAMARASINGHE, B. The Hallmarks of Cancer 8: Tumor-Promoting Inflammation. **Scientific American**, 2014.

SANT'ANA DUSSE, L. M.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, M. DAS G. Revisão sobre óxido nítrico Nitric oxide revision. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, p. 343–350, 2003.

SANTOS, Ana Lúcia Mendes do et al. Estudo químico e biológico de *Cyperus rotundus* L. aclimatada no Amazonas. 2014.

- SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1, 8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 14, n. 4, p. 240-244, 2000.
- SCHOLZ, Joachim; WOOLF, Clifford J. Can we conquer pain?. **Nature neuroscience**, v. 5, p. 1062, 2002.
- SCHULZ, V. et al. Medicinal Plants, Phytomedicines, and Phytotherapy. In: **Rational Phytotherapy**. 5^a ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013. p. 1–42.
- SEVINSKY, R.; STEWART, D.; HARIRFOROOSH, S. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Is there a link between cardiovascular and renal adverse effects? **Journal of Integrative Nephrology and Andrology**, v. 4, n. 1, p. 1, 2017.
- SIBI, G.; RABINA, S. Inhibition of Pro-inflammatory Mediators and Cytokines by Chlorella Vulgaris Extracts. **Pharmacognosy Res**, v. 8, n. 2, p. 118-22, 2016 Abr-Jun 2016.
- SILVA, J. P. A. et al. Plantas medicinais utilizadas por portadores de diabetes melittus tipo 2 para provável controle glicêmico no Município de Jequié-BA. **Rev. Saúde.Com**, v. 4, n. 1, p. 10–18, 2008.
- SILVA, Ana Cristina Rivas da et al. Biological activities of α -pinene and β -pinene enantiomers. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 6305-6316, 2012.
- SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. ArtmedEditora, 2016.
- SINGH, R. K. et al. Cysteinyl Leukotrienes and Their Receptors: Molecular and Functional Characteristics. **Pharmacology**, v. 85, n. 6, p. 336–349, 2010.
- SPINDLER, P.; SJOBERG, P.; KNUDSEN, L. E. First exposure in man: toxicological considerations. **Pharmacology and Toxicology**, v. 86, n. S1, p. 8–12, 2000.
- STANFIELD, C. L. **Principles of human physiology**. 5^a ed. São Paulo: Pearson, 2013.
- SUMMERS, Charlotte et al. Neutrophil kinetics in health and disease. **Trends in immunology**, v. 31, n. 8, p. 318-324, 2010.
- TAO, X.; MA, L.; LIPSKY, P. E. Suppression of carrageenan-induced inflammation in vivo by an extract of the Chinese herbal remedy *Tripterygiumwilfordii* Hook F. **Inflammation research**, v. 48, n. 3, p. 139–148, 1999.
- TEIXEIRA, F. M. **Avaliação comparativa do efeito de fármacos anti-inflamatórios com a acupuntura no modelo de dor pós-incisional em ratos**. Rio de Janeiro, Brasil: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2010.
- THURMOND, R. L. et al. Clinical Development of Histamine H4 Receptor Antagonists. **Handbook of experimental pharmacology**, v. 241, p. 301–320, 2017.
- TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 7, p. R1231–R1249, jul.

2014.

TREHANPATI, N.; VYAS, A. K. Immune Regulation by T Regulatory Cells in Hepatitis B Virus-Related Inflammation and Cancer. **Scandinavian journal of immunology**, v. 85, n. 3, p. 175–181, mar. 2017.

TURKEZ, Hasan et al. Cytotoxic and cytogenetic effects of α -copaene on rat neuron and N2a neuroblastoma cell lines. **Biologia**, v. 69, n. 7, p. 936-942, 2014.

TSUDA, Makoto. Microglia in the spinal cord and neuropathic pain. **Journal of diabetes investigation**, v. 7, n. 1, p. 17-26, 2016.

UNGPRASERT, P.; SRIVALI, N.; THONGPRAYOON, C. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs and Risk of Incident Heart Failure: A Systematic Review and Meta-analysis of Observational Studies. **Clin Cardiol**, v. 39, n. 2, p. 111-8, Feb 2016.

VARAS-LORENZO, C. et al. Myocardial infarction and individual nonsteroidal anti-inflammatory drugs meta-analysis of observational studies. **Pharmacoepidemiology and drug safety**, v. 22, n. 6, p. 559–70, jun. 2013.

VIEIRA, L. et al. 21-Benzylidene digoxin, a novel digoxin hemi-synthetic derivative, presents an anti-inflammatory activity through inhibition of edema, tumour necrosis factor alpha production, inducible nitric oxide synthase expression and leucocyte migration. **International immunopharmacology**, v. 65, p. 174–181, 10 out. 2018.

VOLTARELLI, J. C. Febre e inflamação. **Simpósio de semiologia e fisiopatologia clínicas**, v. 27, n. 1, p. 7–48, 1994.

WESTERGAARD, C. G.; PORSEBJERG, C.; BACKER, V. Emerging corticosteroid agonists for the treatment of asthma. **Expert Opin Emerg Drugs**, v. 20, n. 4, p. 653-62, 2015.

WIEGMAN, C. H. et al. Oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction drives inflammation and airway smooth muscle remodeling in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 136, n. 3, p. 769–80, set. 2015.

WOOLF, C. J.; SALTER, M. W. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. **Science (New York, N.Y.)**, v. 288, n. 5472, p. 1765–9, 9 jun. 2000.

YAM, Mun et al. General Pathways of Pain Sensation and the Major Neurotransmitters Involved in Pain Regulation. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 8, p. 2164, 2018.

YAO, L. J. et al. The Medicinal Uses, Toxicities and Anti-inflammatory Activity of Polyalthia Species (Annonaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, out. 2018.

ZOGHBI, M. G. B. et al. Yield and Chemical Composition of the Essential Oil of the Stems and Rhizomes of *Cyperus articulatus* L. Cultivated in the State of Pará, Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n. 1, p. 10–12, jan. 2006.

ANEXO I - Certificado do Comitê de Ética no uso de animais – UFOPA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ - UFOPA
 PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA
 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA/UFOPA

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Farmacologia de produtos naturais da Amazônia”, protocolado sob o numero Nº 07004/2013, utilizando 120 (cento e vinte) camundongos isogênicos e 88 (oitenta e oito) ratos isogênicos, sob a responsabilidade do professor Dr. **Waldiney Pires Moraes**, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da comissão de ética no uso de animais da Universidade Federal do Oeste do Pará.



Santarém, 19 de dezembro de 2013.

Antonio F. F. Almeida
PRESIDENTE CEUA - UFOPA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ - UFOPA

Antonio Waldiney Pires Moraes
Professor/UFOPA
SIPE: 1843993

CEUA/UFOPA Instituída pela portaria nº 15 de 11 de janeiro de 2013 e credenciada junto ao Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA. Deferimento publicado no Diário oficial da União Nº 187, 26 de setembro de 2013. CIAEP: 01.0065.2013