



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Avaliação da Atividade Antinociceptiva e Antiinflamatória do
Óleo Essencial de *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth.**

LUCIANA SILVA BRAVIM

UFPA
Belém – PA
2008

LUCIANA SILVA BRAVIM

Avaliação da Atividade Antinociceptiva e Antiinflamatória do Óleo
Essencial de *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Farmácia da Universidade
Federal do Pará como requisito para a
obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Pergentino José da Cunha Sousa

Co-Orientador: Prof. Dr. José Guilherme Soares Maia

UFPA
Belém – PA
2008

FICHA CATALOGRÁFICA

Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará

BRAVIM, Luciana Silva

Avaliação da Atividade Antinociceptiva e Antiinflamatória do Óleo Essencial de *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth/ Luciana Silva Bravim – Belém, 2008, 69 p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Pará.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Linha de Pesquisa: Avaliação Biológica de Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: Sousa, Pergentino José da Cunha.

Descritores: 1. *Hyptis crenata*. 2. Óleo essencial. 3. Antinociceptiva. 4. Antiinflamatória

UFPA/ICS/PPGCF/2008

Autor: Luciana Silva Bravim

Título: Avaliação da Atividade Antinociceptiva e Antiinflamatória do Óleo Essencial de *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth.

Área de concentração: : Fármacos e Medicamentos

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Pará como requisito para a obtenção do Título de Mestre.

APROVADO EM: 07/11/2008.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Pergentino José da Cunha Sousa - ICS/UFPA

Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho – CCB/UNIFAP

Maria Elena Crespo Lopez – ICB/UFPA

À minha mãe, irmã e ao
meu noivo, pela conquista deste
título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço esta conquista a Deus por iluminar o caminho que escolhi a seguir.

Em especial aos meus pais pela oportunidade e pelo esforço dedicado a mim.

A minha irmã pelo apoio e carinho.

Ao meu noivo pelo amor, resignação e companheirismo.

A minha avó, *in memoriam*, pelo carinho que nunca vou esquecer.

Ao meu orientador professor Pergentino José da Cunha Sousa, pela sua dedicação em mais uma orientação direcionada a mim.

Ao professor José Guilherme Soares Maia, por ter me fornecido o material botânico e disponibilizado seu laboratório para a extração do óleo essencial.

À Joyce Kelly, por ter me auxiliado na extração do óleo essencial.

Aos funcionários e colegas do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas - UFPA.

Aos professores José Carlos Tavares Carvalho, Maria Elena Crespo Lopez por aceitarem a participar da banca examinadora e ao professor José Luiz Vieira, por ter participado da minha qualificação, o que contribui muito para aprimorar este trabalho.

Aos meus novos amigos Anderson Bentes, Alessandra Cardoso, Kariane Mendes, Maxwell pelo apoio dado por todo este tempo.

Aos colegas Bruno e Hugo Favacho que também me auxiliaram para a realização deste trabalho.

Ao Instituto Evandro Chagas e ao Biotério Central do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará pela concessão dos animais.

A todos vocês meu muito obrigada!

“Contribua, com sua parcela, para tornar mais belo este mundo. Um pequenino gesto, uma ação insignificante, podem melhorar muito o ambiente em que nos encontramos, elevar o entusiasmo de quem está desanimado, reanimar aquele que está desiludido. Um simples aperto de mão confiante faz renascer, por vezes, a coragem de quem estava por fraquejar. Então, contribua com algo seu, para tornar mais belo este Mundo”.

Autor desconhecido

RESUMO

Hyptis crenata (Pohl) ex Benth. é uma planta herbácea, medicinal e aromática, pertencente à família lamiaceae, conhecida popularmente como salva-do-marajó, malva-do-marajó e hortelã-bravo. Distribui-se no estuário do Rio Amazonas, Pantanal e no estado de Minas-Gerais. Seu óleo essencial é caracterizado pela presença de monoterpenos e sesquiterpenos. É utilizada popularmente como sudorífico, tônico, estimulante, bem como para tratar inflamação de olhos e garganta, constipação e artrite. Baseado nessas informações, decidiu-se avaliar a atividade antinociceptiva e antiinflamatória do óleo essencial desta espécie (OEHC) através dos seguintes testes: teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético, placa quente, formalina, dermatite induzida pelo óleo de croton, edemas induzidos por dextrana e carragenina e peritonite induzida por carragenina. Para a análise estatística utilizou-se ANOVA seguida de um método de múltiplas comparações (Teste de Student-Newman-Keuls ou teste "t" de Student). O óleo foi extraído por hidrodestilação, obtendo um rendimento de 0,6%. É composto predominantemente por monoterpenos (94,5%). A dose letal média DL₅₀ foi de 5000 mg/kg. Nas contorções abdominais induzidas por ácido acético o óleo (250, 350 e 500 mg/kg) reduziu de forma significativa de maneira dose-dependente estas contorções em 22,56%, 60,76% e 75,53%, respectivamente, cujo coeficiente de correlação linear foi de $r = 0,9341$ e $DE_{50} = 364,22$ mg/kg. No teste da placa quente, o óleo não foi capaz de aumentar o tempo de latência de maneira significativa. No teste da formalina, o OEHC produziu uma inibição da 1ª fase em 26,49% e da 2ª fase em 43,39%. Além disso, a naloxona reverteu o efeito do OEHC neste teste. Na dermatite induzida pelo óleo de croton, o OEHC reduziu o edema de maneira significativa em 44,26%. No edema induzido por dextrana, o óleo foi capaz de impedir o desenvolvimento do edema na dose de 364,22 mg/kg de maneira significativa em relação ao grupo controle. Porém, no edema induzido por carragenina esta inibição não foi observada. Na peritonite induzida por carragenina, o OEHC reduziu o número de leucócitos e o de neutrófilos em 47,55% e 66,47%, respectivamente. A partir dos resultados obtidos, sugere-se que o OEHC apresenta atividade antinociceptiva provavelmente através da ação direta sobre as fibras nociceptivas, além de sugerir que os receptores opióides possam estar envolvidos neste processo; e atividade antiinflamatória provavelmente de origem periférica. Pode-se sugerir, também, que os possíveis componentes responsáveis por essas ações sejam os compostos monoterpênicos presentes no OEHC.

Palavras-chave: *Hyptis crenata*; óleo essencial; antinociceptiva; antiinflamatória.

ABSTRACT

Hyptis crenata (Pohl) ex Benth. is a herbaceous aromatic and medicinal plant, belongs to Lamiaceae, popularly known as salva-do-marajó, malva-do-marajó and hortelã-bravo. This plant is distributed since the mouth of Amazonas River, Marajó Island, Pantanal, and extending up to the states of Minas Gerais. Its essential oil is characterized by presence of monoterpenes and sesquiterpenes. The leaf tea is used as sudorific, tonic, stimulant, as well as to treat the eyes and throat inflammation, constipation and arthritis. Based in these information, we decided to evaluate the antinociceptive and anti-inflammatory activity of the oil (HcEO) of *Hyptis crenata* in mouse through the following tests: abdominal constriction, hot plate, formalin, croton oil-induced ear edema, rat paw edema induced by dextran and carrageenan, carrageenan-induced peritonitis. The statistical method used in this study was ANOVA followed by multiple comparison (Student-Newman-Keuls test or Student "t" test). The essential oil was extracted by hydrodistillation, yield was 0,6% and their main components were monoterpenes (94,5%). The lethal dose (DL₅₀) was 5000 mg/kg. In the abdominal constriction test, at doses of 250, 350 and 500 mg/kg, the HcEO inhibited the abdominal constrictions in 22,56%, 60,76% and 75,53%, respectively, in a dose-dependent manner when compared to the control group. The DE₅₀ calculated was 364,22 mg/kg with a correlation coefficient of 0,9341. The oil not changed significantly the time of latency in the hot plate test. HcEO (364,22 mg/kg) caused an inhibition of the phase I in 26,42% and an inhibition of the phase II in 43,86% of the formalin test. Naloxone, an antagonist of opioid receptor, reverted the analgesic effect of EOHc. HcEO reduced croton oil-induced ear edema in 44,26%. In rat paw edema induced by dextran, HcEO produced inhibition at the dose of 364,22 mg/kg, but the rat paw edema induced by carrageenan this inhibition was not observed. In carrageenan-induced peritonitis, HcEO significantly decreased the leucocyte and neutrophil migration in 47,55% e 66,47%, respectively. Based on the results we are suggesting that the essential oil of *H. crenata* has an antinociceptive activity. It is probably as consequence of direct action on the nociceptive fiber, as well as the opioid system is involved in this effect. Further, our results suggest that anti-inflammatory activity of HcEO is probably of peripheral origin. It can be suggested, too, that the possible components responsible for these actions are the compounds monoterpenes presents in HcEO.

Key-words: *Hyptis crenata*; essential oil; antinociceptive; antiinflammatory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Folhas de <i>Hyptis crenata</i> (Pohl) ex Benth.....	19
Figura 2. Determinação da DL ₅₀ em camundongos do efeito da administração do OEHc (1000, 20000 e 5000 mg/kg v. o.).....	40
Figura 3. Efeito do OEHc (250, 350, 500 mg/kg v.o.) e da indometacina (5 mg/kg v.o.) sobre o estímulo nociceptivo induzido por ácido acético 0,6% em camundongos.....	41
Figura 4. Determinação da DE ₅₀ em camundongos através da regressão linear do efeito da administração v.o. do OEHc (250, 350 e 500 mg/kg) sobre as contorções induzidas por ácido acético 0,6% i.p.	42
Figura 5. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e da morfina (10 mg/kg s.c.) sobre o estímulo nociceptivo térmico (55± 0,1°C) induzido em camundongos.....	43
Figura 6. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e da morfina (4 mg/kg s.c.) sobre o teste da formalina na primeira fase.....	44
Figura 7. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e da morfina (4 mg/kg s.c.) sobre o teste da formalina na segunda fase.....	44
Figura 8. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e da dexametasona (5 mg/kg v.o.) sobre a dermatite induzida pelo óleo de croton em camundongos.....	45
Figura 9. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg, v.o.) e ciproheptadina (5 mg/kg, v.o.) sobre o edema induzido por dextrana (1000µg/pata) em ratos.....	46
Figura 10. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg, v.o.) e indometacina (5 mg/kg, v.o.) sobre o edema induzido por carragenina (1000µg/pata) em ratos.....	47
Figura 11. Efeito de administração OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e dexametasona (1 mg/kg i.p.) na inflamação aguda induzida por carragenina, medida pela concentração de leucócitos no fluido peritoneal (peritonite).....	48
Figura 12. Efeito de administração de OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e dexametasona (1 mg/kg, i.p.) na inflamação aguda induzida por carragenina, medida pela concentração de neutrófilos no fluido peritoneal (peritonite).....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química do óleo essencial de <i>H. crenata</i> e quantidade relativa de cada constituinte.....	39
Tabela 2. Efeito do OEHc sobre o estímulo nociceptivo induzido por ácido acético 0,6% em camundongos.....	69
Tabela 3. Efeito do OEHc sobre o estímulo nociceptivo induzido na placa quente em camundongos.....	69
Tabela 4. Efeito do OEHc sobre o teste da formalina em camundongos.....	70
Tabela 5. Efeito do OEHc sobre a dermatite induzida pelo óleo de croton em camundongos.....	70
Tabela 6. Efeito do OEHc sobre o edema induzido por dextrana.....	71
Tabela 7. Efeito do OEHc sobre o edema induzido por carragenina.....	71
Tabela 8. Efeito do OEHc sobre na migração de leucócitos induzidas por carragenina.....	72
Tabela 9. Efeito do OEHc sobre na migração de neutrófilos induzidas por carragenina....	72

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AINES	Anti-inflamatórios não-esteróides
AMPc	Adenosina monofosfato cíclica
CGEM	Cromatografia de gás acoplada à espectrometria de massas
CGL	Cromatografia gás- líquido
COX	Ciclooxigenase
EM	Espectrometria de massa
FDA	Food and Drug Administration
5-HT	5- hidroxitriptamina
IASP	Associação Internacional para o Estudo da Dor
IL	Interleucina
I.P.	Intraperitoneal
IT	Índice terapêutico
IR	Índice de retenção
LT	Leucotrieno
Min	Minutos
MPEG	Museu Paraense Emílio Goeldi
NGF	Fator de crescimento nervoso
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintetase
OEHC	Óleo essencial de <i>Hyptis crenata</i>
PAF	Fator ativador de plaquetas
PBS	Solução salina tamponada
PG	Prostaglandina
PGI ₂	Prostaciclina
PK	Proteína cinases

S	Segundos
SNC	Sistema nervoso central
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
TX	Tromboxano
S.C.	Subcutânea
V. O.	Via oral
V/V	Volume/volume

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO.....	15
1.1. Óleos essenciais.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1. A Família Lamiaceae.....	17
2.2. O gênero <i>Hyptis</i>	17
2.3. A Espécie <i>Hyptis crenata</i>	17
2.4. O Processo inflamatório.....	19
2.5. Dor.....	25
3 – OBJETIVOS.....	29
3.1. Gerais.....	29
3.2. Específicos.....	29
4 – MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1. Material botânico e coleta.....	30
4.2. Identificação do material botânico.....	30
4.3. Obtenção do óleo essencial e identificação dos constituintes químicos.....	30
4.4. Drogas, reagentes e soluções.....	31
4.5. Materiais usados.....	31
4.6. Animais de Experimentação.....	32
4.7. Experimentos <i>in vivo</i>	33
4.7.1. Avaliação de toxicidade aguda (DL ₅₀).....	33
4.7.2. Estudo da atividade antinociceptiva.....	33
4.7.2.1. Teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	33

4.7.2.2. Determinação da dose efetiva mediana (DE ₅₀).....	33
4.7.2.3. Determinação do índice terapêutico (IT).....	34
4.7.2.4. Teste da placa quente.....	34
4.7.2.5. Teste da formalina.....	34
4.7.3. Estudo da atividade antiinflamatória.....	35
4.7.3.1. Dermatite induzida pelo óleo de Croton.....	35
3.7.3.2. Edema de pata induzido por dextrana.....	35
4.7.3.3. Edema de pata induzido por carragenina.....	35
4.7.3.4. Peritonite induzida por carragenina em ratos.....	36
4.8. Análise Estatística.....	36
5. RESULTADOS.....	38
5.1. Obtenção do óleo essencial e identificação dos constituintes químicos.....	38
5.2. Toxicidade aguda (DL ₅₀).....	40
5.3. Efeito do OEHc sobre o estímulo nociceptivo induzido por ácido acético.....	41
5.4. Determinação da dose efetiva mediana (DE ₅₀).....	41
5.5. Determinação do índice terapêutico (IT).....	42
5.6. Efeito do OEHc sobre o estímulo nociceptivo induzido na placa quente.....	42
5.7. Efeito do OEHc sobre o teste da formalina.....	43
5.8. Efeito do OEHc sobre a dermatite induzida pelo óleo de croton.....	45
5.9. Edema de pata induzido por dextrana.....	45
5.10. Edema de pata induzido por carragenina.....	46
5.11. Peritonite em ratos induzida por carragenina.....	47
6 – DISCUSSÃO.....	49

7 – CONCLUSÃO.....	53
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

1. INTRODUÇÃO

1.1. Óleos essenciais

Os óleos essenciais, extraídos pela primeira vez na Idade Média pelos árabes, são compostos voláteis, naturais, complexos caracterizados por um forte odor e produzidos por plantas aromáticas como metabólitos secundários (SILVA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2006; BAKKALI et al., 2008). Podem ser sintetizados por todos os órgãos das plantas, quer seja, seus botões, flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutos, raízes e madeira ou casca. São armazenados nas células secretoras, cavidades, canais, tricomonas glandulares ou células epidérmicas (BAKKALI et al., 2008).

O interesse do homem pelos óleos essenciais baseia-se na possibilidade da obtenção dos compostos aromáticos, os quais fazem parte diariamente das nossas vidas. Muitos destes compostos são obtidos sinteticamente, por razões econômicas ou por dificuldade para obtenção das plantas produtoras, bem como pelo interesse para obtenção de componentes aromáticos. Contudo, a busca pelo naturalismo tem feito crescer a demanda pelos produtos obtidos diretamente das plantas. Além do mais, há dificuldades para que os aromas dos compostos sintéticos se aproximem da perfeição dos aromas naturais (VITTI; BRITO, 2003).

Os óleos essenciais, ou alguns dos seus componentes, são utilizados nos perfumes ou produtos de maquiagem, nos produtos sanitários, odontológicos, agrícolas, alimentícios, aditivos e como medicamentos naturais. Além disso, são utilizados nas massagens em misturas com óleos vegetais ou em banhos, mas com maior frequência na aromoterapia. Alguns apresentam propriedades medicinais para disfunções sistêmicas (HAJHASHEMI et al., 2003).

Têm sido largamente empregados pelas suas propriedades já observadas na natureza, ou seja, antibacteriana, inseticida e antifúngica. Além disso, possuem várias propriedades biológicas (SOUSA et al., 2007), tais como antinociceptiva (MENEZES et al., 2007; BATISTA et al., 2008), antiinflamatória (PASSOS et al., 2007, MONTEIRO et al., 2007), antioxidante (MORAIS et al., 2006, DORDEVIC et al., 2007), antimicrobiana (LIMA et al., 2006, FERRONATTO et al. 2007) nematocida e larvicida (ALBUQUERQUE et al., 2007).

Estas ações são, provavelmente, à grande diversidade de seus constituintes químicos, caracterizados por estudos anteriores, que demonstram que alguns monoterpenos como o α,β -epóxi-carvona, presente em diversos óleos essenciais, apresenta ação central, (SOUSA, D. P. et al., 2007), o mentol, utilizado em dermatologia, possui ação antiséptica e analgésica

(PATEL et al., 2007), o linalol, que apresenta uma atividade antiinflamatória (PEANA et al., 2002), α -pineno, que possui atividade antiinflamatória e antimicrobiana (ORHAN et al., 2006, CERQUEIRA et al., 2007), 1-8 cineol, que apresenta atividade repelente de insetos (GILLIJ, et al., 2008) e β -pineno, que possui ação antioxidante (WANG et al., 2007).

Desta forma, como o óleo essencial da *Hyptis crenata* é rico em monoterpenos e sesquiterpenos (SCRAMIN et al., 2000; ZOGHBI et al. 2002), bem como, as plantas medicinais aromáticas das quais eles são extraídos são utilizadas na medicina popular, na forma de chás e infusatos, como antiinflamatório e antinociceptivo (SOUSA et al., 2003, SOUSA et al, 2004), entre outras indicações, decidiu-se avaliar se o óleo essencial de *Hyptis crenata* (OEHc) apresenta atividade antinociceptiva e antiinflamatória.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A Família Lamiaceae

A família Lamiaceae, compreende cerca de 250 gêneros e 6970 espécies (JUDD et al., 1999), distribuídas em todo o mundo, sendo o maior centro de dispersão a região do Mediterrâneo (PORTE; GODOY, 2001).

É relativamente bem estudada do ponto de vista químico. Com respeito ao metabolismo especial, apresenta uma grande variedade de classes de micromoléculas, existindo representantes da via do acetato, da via do ácido chiquímico e provenientes de biossíntese mista (MENEZES, 1994).

Essa família tem grande importância econômica por ser fonte de óleos essenciais aromáticos, voláteis e de plantas ornamentais. Muitas espécies são utilizadas como condimentos importantes em culinária, sendo apreciadas pelo aroma ou pelo sabor que conferem aos alimentos (MENEZES, 1994).

2.2. O gênero *Hyptis*

Segundo Bordignon (1990) este gênero é composto por cerca de 350 espécies exclusivamente neotropicais, distribuídas desde o sul dos Estados Unidos e Caribe até a Argentina, excluindo-se somente o extremo sul. Algumas espécies invasoras são bem estabelecidas na Ásia, África e norte da Austrália. O centro da diversidade do gênero se encontra nos campos cerrados do Brasil Central, mais especificamente nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás .

É composto por ervas, subarbustos, arbustos ou raramente árvores pequenas. Os caules geralmente são quadrangulares, as folhas opostas, simples ou mais raramente partidas, pecioladas ou sésseis ou curtamente pedunculadas, contendo substâncias aromáticas. (BORDIGNON, 1990)

Com base nas classes químicas encontradas nas espécies de *Hyptis* estudadas, pode-se observar que estas seguem o mesmo padrão da família Lamiaceae, ou seja, predominância de metabólitos da via do acetato-mevalonato, mas com algumas substâncias de origem biossintética mista e da via do ácido chiquímico (FALCÃO, 2003).

A importância farmacológica desse gênero é tão grande, que muitos grupos de pesquisa testaram separadamente as atividades dos extratos e dos óleos essenciais (FALCÃO; MENEZES, 2003), caracterizada pela presença de substâncias com potencial farmacológico

interessante, principalmente atividades anti-microbiana, antifúngica, citotóxica, anti-inflamatória, anti-HIV e inseticida (FALCÃO e MENEZES, 2003; OLIVEIRA et al., 2004).

Suas espécies aromáticas são frequentemente usadas no tratamento de infecções gastrintestinais, cãibras (MORAIS et al., 2005), antinociceptiva (SILVA et al., 2006, SANTOS et al., 2007; ARRIGONI-BLANK et al., 2008). Possuem também ação larvicida (COSTA et al., 2005; REBELO, 2006) e antidepressiva (BUENO et al., 2006).

2. 3. A Espécie *Hyptis crenata*

Já descrita por Corrêa (1984), *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth. é uma planta aromática e medicinal, pertencente à família das labiadas, herbácea, com folhas pecioladas, crenadas e pubescentes, flores dispostas em capítulos pedunculados. Segundo Berg (1993), é uma erva ereta com haste suculenta e pilosa, folhas oposto-decussadas, coráceas, sésseis, elípticas, ovadas ou elíptico oblongas com 2-4cm de comprimento e 1,2-2cm de largura, ápice agudo ou arredondado, base arredondada ou codiforme, margem serreada, possui inflorescências axilares, capituliformes, multifloras com brácteas lanceoladas ou acuminadas, flores com cálice tubuloso e apresenta núculas oblongo-ovóides com cerca de 1cm de comprimento. Encontra-se distribuída em estuário do rio Amazonas, arquipélago do Marajó, estados do Pará e Amapá e Minas Gerais. É encontrada também no Pantanal (CORRÊA, 1984; POTT; POTT, 1997).

É conhecida popularmente como salva-do-marajó, hortelã-brava, salsa-do-marajó, malva-do-marajó (CORRÊA, 1984; HASHIMOTO, 1996) e hortelã-do-campo (BERG, 1993, BERTOLD et al., 2004).

Foi registrado por Kobayashi et al., (2001, a), que o extrato apresentou atividade no tratamento de doenças de pele enrugada causadas por detergentes, entre outros, por um mecanismo de inibição da serina protease. Previniu também a degradação da elastina, lâmina e membrana basal dérmica, por um mecanismo de inibição da gelatinase (KOBAYASHI et al., 2001 b).

O chá de suas folhas é usado popularmente como sudorífico, tônico, estimulante, para tratar inflamação dos olhos e garganta, constipação e artrite (BERG, 1993). Além do chá, suas folhas são utilizadas como repelente de insetos quando friccionadas sobre a pele (POTT; POTT, 1997). O néctar de suas flores é utilizado para a produção de mel (BERTOLDI et al., 2004). Seu óleo e extrato apresentam atividade antioxidante e citotóxica (REBELO, 2006).

Estudos sobre a composição química de seu óleo essencial demonstraram a riqueza de monoterpenos e sesquiterpenos (SCRAMIN et al., 2000; ZOGHBI et al. 2002).



Figura 1: Folhas de *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth.

Fonte: MAIA et al., 2001

2.4. O Processo inflamatório

Os estudos da atividade inflamatória se iniciaram com Cornelius Celsus no século I d. C., a partir da enumeração dos quatro sinais cardinais da inflamação: rubor, calor, tumor e dor. Posteriormente, um quinto sinal clínico foi acrescentado por Virchow, a perda da função (EDWARDS et al., 1981). A inflamação pode ser definida como uma resposta inespecífica com efeito benéfico para o indivíduo à lesão dos tecidos (BARBOSA-FILHO et al., 2006).

O processo inflamatório envolve uma série de eventos que podem ser desencadeados por numerosos estímulos de natureza química, física ou biológica (ZHOU et al., 2007).

É amplamente definida como uma reação inespecífica protetora à lesão de tecidos vascularizados. As características clássicas deste fenômeno estão relacionadas ao aumento do fluxo sanguíneo capilar (calor e rubor) e da permeabilidade vascular, à infiltração de células em tecido (tumor) e à liberação de substâncias no local da inflamação (dor) (LARSEN e HOLT, 2000), resultando, assim, nos quatro sinais característicos da inflamação. Pode ocorrer, em alguns casos, a perda da função da área lesionada (ROCHA et al, 2007).

Em geral, este processo é auto-limitante e conduz ao retorno dos tecidos e órgãos para um estado normal tanto estrutural quanto funcionalmente (LARSEN; HOLT, 2000).

Na reação inflamatória existem eventos vasculares que levam à formação de edema e aqueles que acarretam a migração de leucócitos. Estes eventos são desencadeados por diferentes mediadores que se originam do plasma ou células locais, podendo ser ampliados ou modificados por mediadores liberados das células inflamatórias que migraram para o local da inflamação (PAUL, 1998).

Os eventos vasculares consistem em dilatação inicial das pequenas arteríolas, resultando no aumento do fluxo sanguíneo, seguido de redução e, a seguir, estase do sangue e aumento da permeabilidade das vênulas pós-capilares, com exsudação de líquido. A vasodilatação é produzida por diversos mediadores, entre eles, prostaglandinas (PG) E₂ e PGI₂ (prostaciclina), aminas vasoativas, como a histamina (BARBOSA-FILHO et al., 2006).

Segundo Sayers (2002) os principais componentes para o desenvolvimento da inflamação são:

- vasodilatação;
- aumento da permeabilidade vascular;
- ativação e adesão celular;
- coagulação

Nos eventos celulares, os leucócitos ativados migram para o tecido, onde atuam contra os agentes nocivos. Eles são os principais protagonistas na defesa do organismo. Essa é uma resposta benéfica “normal” que é essencial para a sobrevivência, além de reparar e curar o tecido. A adesão de leucócitos à parede do endotélio dá-se através de moléculas de adesão: selectinas L, P e E, e subsequente migração dos neutrófilos para o interior dos tecidos (SAYERS, 2002). A migração e ativação dos neutrófilos durante a inflamação é o resultado de vários eventos, envolvendo a liberação de diversos mediadores (GOMES et al., 2008).

Entre eles, podem-se citar, os mediadores do sistema do complemento, que é constituído por nove componentes principais, C1 a C9. A ativação da cascata pode ser desencadeada por três vias: pela via clássica, que utiliza uma proteína plasmática C1 para detectar anticorpos; a via alternativa, que envolve o reconhecimento direto de certas estruturas da superfície microbiana e a via da lectina, desencadeada por uma proteína, a lectina de ligação à manose (MBL). A proteína central do complemento, C3, é clivada à C3b, que atua como uma opsonina, ligando-se aos microorganismos, promovendo a fagocitose dos mesmos. Um outro fragmento, C3a, estimula a inflamação, agindo como um quimioatraente para neutrófilos. Outro peptídeo é o C5a, que estimula a entrada dos neutrófilos no local da infecção, bem como é um componente vascular da inflamação aguda (RAMAGLIA et al., 2008).

Os efetores da resposta inflamatória são citocinas como o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e várias interleucinas (ILs) (SAYERS, 2002). As citocinas são peptídios estimulados antigenicamente que atuam na própria célula produtora, em células próximas ou distantes. São produzidas por uma variedade de células envolvidas na resposta inflamatória, incluindo macrófagos, neutrófilos de células endoteliais, os quais têm uma variedade de efeitos, incluindo expressão da molécula de adesão, quimiotaxia e ativação de outras vias inflamatórias (coagulação, complemento, cininas e fibrinólise). Esta resposta local é firmemente controlada pela produção de interleucinas antiinflamatórias (IL-10) e antagonista endógeno (SAYERS, 2002). O TNF- α tem sido chamado de “citocina sentinela”, uma vez que inicia a defesa no local da lesão, ativando outras citocinas e fatores tróficos. Ele pode ser liberado por diversas células, inclusive as de Schwann, e exercer seus efeitos através da interação com o receptor do TNF- α tipo I (sTNRF1), que tem sua expressão aumentada após a lesão neuronal (KRAYCHETE et al., 2006, TRACEY et al., 2008).

Diversas estratégias terapêuticas capazes de inibir a produção de TNF- α foram, com sucesso, usadas no tratamento clínico para o gerenciamento de doenças inflamatórias crônicas, particularmente artrite reumatóide (PASSOS et al., 2007).

Também fazem parte do processo inflamatório as aminas vasoativas serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) e histamina.

A serotonina é sintetizada a partir do triptofano numa reação mediada por triptofano sintetase. Cerca de 90% desta amina são produzidos nas células enterocromafins intestinais (WOUTERS et al., 2007).

É encontrada também em plaquetas humanas, mastócitos de ratos, mas não de humanos, e no sistema nervoso central. A 5-HT possui multiplicidade de ações biológicas em função da variedade de receptores farmacológicos, atuando como neurotransmissor. Suas ações são traduzidas pela larga família de receptores serotoninérgicos divididos em sete classes (5-HT₁-5HT₇) (WOUTERS et al., 2007). A 5-HT tem sido reconhecida como um mediador endógeno da resposta inflamatória nos tecidos periféricos. O edema induzido por formalina aumenta quando houver co-administração de 5-HT (DOAK; SAWYNOK, 1997).

A indução de hiperalgesia por carragenina sugere que os subtipos de receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} pareçam ter efeito facilitador no mecanismo nociceptivo na espinha dorsal de ratos (ZHANG et al., 2001). Estes dados reforçam o aumento da participação de 5-HT_{1A} na resposta nociceptiva (PARADA et al., 2001).

A histamina foi o primeiro mediador com função biológica identificado no início do século XX, e seus receptores têm sido alvos de drogas por mais de sessenta anos. É um

mediador armazenado em mastócitos, juntamente com 5-HT, é uma amina formada a partir da histidina por ação da histidina descarboxilase e encontrada em vários tecidos, destacando-se os pulmões, pele e trato gastrintestinal. Suas ações fisiológicas resultam de ação em quatro receptores farmacológicos denominados H₁, H₂, H₃ (MAINTZ; NOVACK, 2007) e H₄ (RABER, 2007).

Os efeitos da histamina nos processos fisiológicos e patológicos, bem como novas funções desta ainda estão sendo elucidados. Ela é melhor caracterizada nos processos inflamatórios, secreção gástrica e como um neurotransmissor. Durante a inflamação, a histamina é liberada pelos mastócitos e basófilos. Tem ação sobre a célula muscular lisa e células endoteliais, provocando vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. Na pele, acarreta uma resposta tripla: vermelhidão local pela vasodilatação, tumor devido ao aumento da permeabilidade vascular e dilatação, associada à vasodilatação indireta via estimulação por reflexos axonais (THURMOND et al., 2008). . No sistema gastrintestinal, a histamina é essencial para a secreção ácida (TAHIRO et al., 2001).

Existem quatro classes de antagonistas da histamina: os antagonistas dos receptores H₁, H₂, H₃ e H₄. Os receptores H₁ são expressos por múltiplos tipos de células, incluindo células endoteliais e do músculo liso, provocando vasodilatação e broncoconstrição. Os antagonista dos receptores H₁, como a difenidramina (1^a geração) e loratadina (2^a geração) têm sido usados por muitos anos para o tratamento da resposta alérgica inflamatória. Além disso, receptores H₁ intercedem diversos efeitos da histamina no sistema nervoso central, como o ciclo sono-vigília, através da primeira geração de anti-histamínicos de receptores H₁, os quais têm efeito sedativo devido a passagem pela barreira hematoencefálica. A redução da atividade locomotora, funções cognitivas e sensação de dor são observadas em camundongos deficientes de receptores H₁ (INOUE et al., 1996).

A histamina é também encontrada nas células parietais da mucosa gástrica, atuando sobre receptores H₂. Os antagonistas dos receptores H₂ de histamina (anti-ulcerosos) inibem as ações da histamina em todos os receptores H₂, os quais são representados por cimetidina e ranitidina, nizatidina e famotidina (LEFRANC et al., 2006; THURMOND et al., 2008).

A histamina é encontrada no cérebro em menor quantidade do que em outros tecidos, como a pele e os pulmões. Sua liberação endógena no cérebro é regulada pelos receptores H₃. No sistema nervoso central (SNC) os receptores H₃ são frequentemente expressos como auto-receptores pré-sinápticos (RABER, 2007). São encontrados primeiramente no sistema nervoso, atuando na neurotransmissão central e periférica. Apesar dos agonistas de receptores

H₃ não serem utilizados na clínica, como a tioperamida, são utilizados em estudos em pesquisa (THURMOND et al, 2008).

Os receptores H₄ não são frequentemente expressos como os outros receptores histaminérgicos. Eles são encontrados nas células hematopoiéticas periféricas como eosinófilos, neutrófilos e células T CD₄⁺, sugerindo uma importante função no sistema imune (RABER, 2007).

A bradicinina, um outro mediador do processo inflamatório, é um peptídeo vasoativo que provoca vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, resultando sua ação vasodilatadora, em parte, pela produção de PGI₂ e pela liberação de óxido nítrico (NO). Trata-se de um potente produtor de dor, ação que é potencializada pelas prostaglandinas (LOUREIRO-SILVA et al, 1999; LEEB-LUNDBERG et al., 2005).

Esses metabólito estão envolvidos em numerosas patologias, particularmente nas doenças inflamatórias, sendo e

Os produtos do metabolismo do ácido araquidônico também estão envolvidos no desencadeamento da inflamação. O ácido araquidônico é um ácido graxo poliinsaturado, contendo 20 átomos de carbono (ácido 5,8,11,14-eicosatetraenóico), derivado da dieta ou da conversão do ácido graxo essencial (ácido linoléico). Não é encontrado livre nas células, mas sim na forma esterificada nos fosfolipídios da membrana, sendo liberado destes, através das fosfolipases celulares, por exemplo, fosfolipase A₂, que é liberada por estímulos mecânicos, físicos e químicos, ou por outros mediadores. Os metabólitos do ácido araquidônico, os eicosanóides, são sintetizados por duas classes principais de enzimas, as ciclooxigenases (prostaglandinas e tromboxanos) e as lipoxigenases (leucotrienos e lipoxinas) (YEDGAR et al., 2007; HIKIJI et al., 2008). Esses metabólito estão envolvidos em numerosas patologias, particularmente nas doenças inflamatórias, sendo eles alvos para a descoberta de novas drogas antiinflamatórias (YEDGAR et al., 2007).

Atualmente, são conhecidas três isoformas de ciclooxigenases (COXs): COX-1, COX-2 e COX-3. A COX-1, constitutivamente expressada, ou seja, está presente nas células em condições fisiológicas, principalmente nos vasos sanguíneos, plaquetas, estômago e rins, acredita-se ser responsável em manter as condições hemostáticas, é amplamente encontrada na maioria das células e tecidos de mamíferos, tais como mucosa gástrica. A COX-2, por outro lado, é geralmente ausente na maioria dos tecidos normais, mas pode ser facilmente induzida por inúmeros estímulos como TNF- α e células inflamatórias. É responsável pela produção de níveis elevados de prostanóides durante a inflamação. A COX-3 é uma variação da COX-1(pois é derivada do mesmo gene dessa isoforma). Encontra-se distribuída

principalmente no córtex cerebral, medula espinhal e coração, sendo mais sensível ao paracetamol do que a COX-1 e COX-2. Postulou-se que a inibição da COX-3 poderia representar o mecanismo central primário pelo qual as drogas analgésicas e antipiréticas como os antiinflamatórios não-esteroidais (AINES) desenvolveriam suas atividades de redução da dor e da febre (CARVALHO et al., 2004; WANG et al., 2007; HIKIJI et al., 2008).

Em 1971, um trabalho pioneiro realizado por Vane e colaboradores identificou a inibição da síntese de prostaglandinas como mecanismo de ação do ácido acetilsalicílico (aspirina) e a relacionou às drogas antiinflamatórias não esteroidais (AINES). Esta inibição ocorre através do bloqueio de duas ciclooxigenases, COX-1 e COX-2 (ZEILHOFER, 2007).

Estas enzimas convertem o ácido araquidônico, através da ativação da fosfolipase A₂, em PGH₂, que em seguida é convertida em diferentes prostaglandinas ativas (PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}, PCI₂) e tromboxano A₂ (TXA₂), coletivamente chamados de prostanóides (DUFFY, et al., 2005; ZEILHOFER, 2007).

Apesar dos AINES serem frequentemente prescritos, eles podem acarretar efeitos adversos, resultantes da inibição da atividade da prostaglandina E₂ sintetase, incluindo perfuração e hemorragia do trato gastrointestinal (SCHOLICH; GEISSLINGER, 2006).

Os AINES bloqueiam ambas as enzimas e induzem o aparecimento de graves efeitos adversos como sangramento gastrointestinal, alterações renais e nos mecanismos de hemostase. Tais ações, que parecem ser decorrentes da inibição da COX-1, levaram à busca de inibidores mais seletivos, o que resultou no surgimento de drogas mais específicas para COX-2 (SCHOLICH; GEISSLINGER, 2006), como, por exemplo, rofecoxib e celecoxib, que foram os primeiros inibidores específicos para a COX-2 aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA) para tratamento de artrite reumatóide, osteoartrite e alívio da dor aguda (CAPONE et al, 2003).

Contudo, estes inibidores seletivos de COX-2 inibem a PGI₂ que possui efeitos protetores sobre o sistema vascular, o que pode explicar a maior incidência de ataques cardíacos e acidente vascular cerebral entre aqueles que utilizam estes fármacos (SCHOLICH; GEISSLINGER, 2006). Além disso, estudos clínicos têm sugerido que esses inibidores poderiam causar outros efeitos colaterais tais como lesões gastrointestinais e hipersensibilidade (ARAICO et al., 2007).

O TXA₂ é um potente agente de agregação plaquetária e vasoconstritor. É altamente instável, rapidamente é convertido à sua forma mais estável, TXB₂ (HIKIJI et al., 2008).

Os leucotrienos (LTs), por sua vez, constituem uma família de substâncias farmacologicamente ativas e potentes derivadas do ácido araquidônico por ação de 5-

lipooxigenases. São enzimas solúveis citosólicas, encontradas preferencialmente nos pulmões, plaquetas, células endoteliais, monócitos, mastócitos, eosinófilos e linfócitos B (MONTUSCHI et al., 2007).

Entre os leucotrienos, pode-se citar o LTB₄, um potente agente quimiotático para leucócitos polimorfonucleares, eosinófilos e monócitos. Em concentrações elevadas, estimula a agregação de leucócitos polimorfonucleares e promove a degranulação e a geração de superóxido. Promove a adesão de neutrófilos às células endoteliais, estimulando também, a síntese de citocinas pró-inflamatórias em monócitos e linfócitos (GOMES et al., 2008).

As lipoxinas, que foram recentemente adicionadas à família dos produtos bioativos gerados a partir do ácido araquidônico, contrastam com a maioria dos outros mediadores lipídicos, que são essencialmente pró-inflamatórios tais como leucotrienos, fator ativador de plaquetas (PAF) e prostanóides. Estão envolvidas na inibição do recrutamento leucocitário e dos componentes celulares da inflamação. Elas inibem a quimiotaxia dos neutrófilos e sua adesão ao endotélio (FIERRO e SERHAN, 2001).

O óxido nítrico, outro mediador do processo inflamatório, é sintetizado a partir da L-arginina e do oxigênio molecular pela enzima óxido nítrico sintetase (NOS) (LUNDBERG et al., 2008). É um potente vasodilatador, devido sua ação no músculo liso vascular, inibe a adesão dos monócitos na superfície da célula endotelial e a agregação plaquetária e controla a proliferação das células musculares lisas (ZOCCALI, 2007).

O fator ativador de plaquetas é um lipídio biologicamente ativo, que pode produzir efeitos em concentrações extremamente baixas (inferiores a 10⁻¹⁰ mol/L). Foi descrito como o primeiro elemento capaz de ativar e agregar as plaquetas. Tem a capacidade de produzir muitos dos fenômenos da inflamação. Possui potentes efeitos biológicos, como constrição das vias respiratórias, hipotensão, e aumento da permeabilidade vascular. Quando aplicado localmente, produz vasodilatação, eritema, aumento da permeabilidade vascular e formação de pápulas. A administração em doses mais altas provoca hiperalgesia. É quimioatraente para neutrófilos e monócitos. Pode ativar a fosfolipase A₂, com produção de eicosanóides. (HIKIJ et al., 2008).

2.5. Dor

De acordo com a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), o problema é definido como uma experiência sensorial ou emocional desagradável, associada a uma lesão real ou potencial dos tecidos (PIETROVSKI, 2004).

Porém, há evidências de que esta associação pode não ocorrer, como na cefaléia e na dor pélvica crônica, onde parece ocorrer sem lesão tissular detectável pelos métodos diagnósticos disponíveis na prática clínica atual, favorecendo a hipótese de que podem haver alterações neurofuncionais restritas ao âmbito biomolecular, cuja interação é pouco conhecida entre neuromediadores, neurotransmissores e transdutores de sinais, em uma rede de bilhões de sinapses, dificultando a compreensão da etiologia da dor (ROCHA et al., 2007).

Por outro lado, o trauma e a estimulação do sistema nervoso periférico ou central também podem alterar as respostas imunes. Como consequência, observa-se a ativação de peptídios e receptores, com posterior tradução do sinal para o meio intracelular. Neste contexto, o avanço no conhecimento da neuroanatomia das vias de condução, da neurofarmacologia e da fisiopatologia da dor facilita o desenvolvimento de pesquisas visando novas modalidades de tratamento. Assim, a analgesia efetiva para as síndromes dolorosas ainda é um grande desafio (ROCHA et al., 2007).

Há um sistema específico de dor, o qual transfere informações sobre a lesão tecidual para o local de percepção: o cérebro. A energia nociceptiva é traduzida por sinais eletrofisiológicos que são transmitidos por aparatos perceptivos. Esta plasticidade é mediada por diversos mecanismos, incluindo sensibilização periférica/primária e central/secundária. É formada por um conjunto de mediadores químicos que atuam periféricamente e na espinha, comparáveis à complexidade dos neurotransmissores no cérebro (FARQUHAR-SMITH, 2007).

O estímulo doloroso é propagado através das fibras aferentes primárias C ou A δ onde encontram-se os nociceptores, os quais são ativados por diversos neuromediadores inflamatórios quando liberados por macrófagos, mastócitos, células endoteliais ou nervos traumatizados, facilitando a transmissão dolorosa e as alterações inflamatórias periféricas e, conseqüentemente, o quadro de hiperalgesia, sendo chamados de algioênicos. Dentre estes, se destacam a acetilcolina, a histamina, bradicinina, o leucotrieno, a substância P, o PAF, os radicais ácidos, os íons potássio, as prostaglandinas, os tromboxanos, as interleucinas e o fator de crescimento nervoso (NGF) (KRAYCHETE et al., 2006; MA; QUIRION, 2008).

A bradicinina, assim como o íon potássio, é responsável por provocar intensa dilatação arteriolar e aumentar a permeabilidade capilar, contribuindo para a propagação da reação inflamatória. A bradicinina e a PGE₂ causam alterações nos receptores vanilóides específicos (TRPV1) acoplados aos canais iônicos ligante-dependentes, via ativação de adenosina monofosfato cíclica (AMPc), e das proteínas cinases (PKs) A e C, reduzindo o tempo pós-

hiperpolarização da membrana neural, causando redução do limiar para disparo da fibra nervosa (ROCHA et al., 2007; STAROWICZ et al., 2007).

Histamina, prostaglandinas e leucotrienos provocam inflamação e sensibilização das terminações nervosas, surgindo o edema e a dor. Assim, ocorre maior expressão de moléculas de adesão e infiltração de macrófagos e células T no local, causando aumento das citocinas pró-inflamatórias (TNF, IL-1, IL-6 e IL-8) no disco intervertebral (KRAYCHETE et al., 2006).

O NGF aumenta a excitabilidade elétrica dos neurônios aferentes nociceptivos e também promove a formação de contatos sinápticos. Estimulam, também a produção de PGE₂ nos mastócitos (CAMPBELL; MEYER, 2006; MA; QUIRION, 2008).

A substância P age na periferia, promovendo uma inflamação por seus efeitos sobre os vasos sanguíneos (vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular) e células do sistema imune (atração das células do sistema imune para o local da lesão e desgranulação de mastócitos com liberação de diversos neuromediadores) (DRESSLER et al., 2005; ROCHA et al. 2007). A inibição da transmissão da substância P e a emissão periférica podem aumentar o arsenal terapêutico no controle da dor (ONETTA, 2005).

Um outro transmissor importante na dor é o glutamato, provável neurotransmissor das fibras do tipo A δ . É um dos transmissores excitatórios mais amplamente utilizados no SNC dos mamíferos, no corno dorsal da medula espinhal, tendo período de ação de apenas alguns milissegundos. Esta neurotransmissão é controlada por interneurônios inibitórios gabaérgicos e glicinérgicos (CAROBREZ, 2003; SCHMIDTKO et al., 2008).

As terminações nervosas das fibras nociceptivas A δ e C são capazes de traduzir um estímulo agressivo de natureza térmica, química ou mecânica, em estímulo elétrico que será transmitido até o sistema nervoso central e interpretado no córtex cerebral como dor. As fibras A δ são mielinizadas, em função da presença da bainha de mielina e transmitem o estímulo doloroso de forma rápida. As fibras C não são mielinizadas e possuem a capacidade de transmitir estímulos dolorosos em diferentes velocidades, são responsáveis pela transmissão lenta da dor (LEE et al., 2005). Ambas são classificadas em subtipos A δ 1, A δ 2, C1 e C2 (ROCHA et al., 2007).

A dor pode ser distinguida em três formas: dor nociceptiva, resultante da ativação de neurônios nociceptivos primários, os quais têm função fisiológica importante como à proteção da lesão tecidual. A dor de origem inflamatória: originada de todas as formas de inflamação, e a dor neuropática: que provém de uma lesão de nervos periféricos e centrais e de neurônios. A dor neuropática é acompanhada por dor espontânea intensa e dor provocada por leve estímulo.

A dor inflamatória e a neuropática podem exceder a duração da causa primária da dor. Elas podem se tornar síndromes de dor crônica (ZEILHOFER, 2007).

Pode-se inferir, então, que a dor crônica é um estado de constante facilitação da condução nervosa, quando estímulos, que outrora inócuos, podem ser interpretados como dor (alodinia) ou quando a resposta ao estímulo doloroso não é proporcional à intensidade da agressão (hiperalgesia) (KRAYCHETE, 2006).

3 – OBJETIVOS

3.1. Gerais:

Determinar a toxicidade aguda, a dose efetiva mediana, o índice terapêutico e os efeitos antiinflamatório e antinociceptivo do óleo essencial de *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth.

3.2. Específicos:

- Determinar a toxicidade aguda, através da dose letal média (DL₅₀), em camundongos, do óleo essencial de *Hyptis crenata* OEHC;
- Determinar a dose efetiva mediana (DE₅₀) do OEHC;
- Determinar o índice terapêutico (IT) do OEHC;
- Avaliar a atividade antinociceptiva, em camundongos, do OEHC;
- Estudar o efeito do OEHC sobre a dermatite induzida pelo óleo de croton em camundongos;
- Avaliar a atividade antiedematogênica, em ratos, do OEHC;
- Determinar a atividade antiinflamatória do OEHC na peritonite induzida por carragenina.

4 – MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material botânico e coleta

A planta utilizada para estudo, identificada como *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth., de porte herbáceo, é pertencente à família lamiaceae, vulgarmente chamada de salva-do-marajó.

Três amostras foram coletadas: a primeira na localidade Deus-me-ajude, a segunda no Rio Câmara e a terceira em São Pedro, Município de Salvaterra/ PA, que fica a aproximadamente 80 km de Belém.

4.2. Identificação do material botânico

Um exemplar foi encaminhado para a Coordenação de Botânica do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG/PA) para a preparação das exsicatas, registro e incorporação no herbário. A identificação botânica da espécie foi feita pela Dr^a. Lea Carreira, recebendo o número MG174699.

4.3. Obtenção do óleo essencial e identificação dos constituintes químicos

A extração do óleo essencial, a partir da planta seca e pulverizada, foi feita no Laboratório de Engenharia de Produtos Naturais (LEPRON), da Universidade Federal do Pará (UFPA), por hidrodestilação (MAIA et al., 2001). O material foi pesado (100 g) e submetido à hidrodestilação, usando-se aparelho de vidro tipo Clevenger, durante três horas. Neste processo, ele foi colocado em um balão de fundo redondo, imerso em água destilada. A água foi posta em ebulição por aquecimento direto do balão em mantas aquecedoras, permitindo o arraste dos compostos voláteis pelo vapor de água. A mistura do vapor foi conduzida para um condensador refrigerado (por um meio de um banho termostático), para condensação dos líquidos e recolhimento das fases no Clevenger. Em seguida, foi retirado o óleo essencial pelo processo de decantação, com o uso de centrífuga. O óleo foi removido para frascos de vidro (cor âmbar), com pipetas Pasteur e armazenado em refrigerador à temperatura 5°C. O rendimento foi calculado com base na quantidade da droga vegetal em gramas e o volume resultante do óleo.

O óleo essencial foi analisado no LEPRON por cromatografia gás-líquido (CGL) e cromatografia de gás acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Foram usados um cromatógrafo de gás HP 5980, com ionização de chamas, e um cromatógrafo de gás acoplado à espectrometria de massas Finigan Incos XL, equipados com coluna capilar de sílica do tipo DB-5 (30 m x 0,25 mm d.i., espessura do filme 0,25µm), gás de arraste hidrogênio e hélio, respectivamente; temperatura do injetor a 220°C; tipo de injeção, splitless, 2 µL de uma

solução de 1 mg da amostra para 1 mL de n-hexano (1:1000); temperatura programada para 60-240°C, com gradiente de 3°C/min (MORAIS et al., 1972; MAIA et al., 2000, 2001; ZOGHBI et al., 2002).

4.4. Drogas, reagentes e soluções

Os experimentos realizados utilizaram as seguintes drogas e soluções:

- Solução fisiológica de Cloreto de sódio 0,9% (Laboratório Tayuyna Ltda, SP);
- Formaldeído P. A. (VETEC Química Fina Ltda, RJ);
- Ácido acético P. A. (VETEC Química Fina Ltda, RJ);
- Acetona P. A. (VETEC Química Fina Ltda, RJ);
- Hidrocloridrato de ciprooptadina (Sigma Chemical CO, St Louis, MO, USA);
- Carragenina (Sigma Chemical CO, St Louis, MO, USA);
- Dextrana (Sigma Chemical CO, St Louis, MO, USA)
- Morfina (Dimorf[®] Cristália, SP);
- Xilasina (Rompun[®] Bayer, SP);
- Ketamina (Vetanarcol[®], König, Argentina);
- Indometacina (Sigma Chemical CO, St Louis, MO, USA);
- Dexametasona (Azium[®], Schering-Plough Veterinary, RJ);
- Tween 80 (Merck, RJ);
- Solução de Turk;
- Corante pancreômico de Rosenfeld;
- Solução salina tamponada com fosfato (PBS).

4.5. Materiais usados

- Seringa de Insulina Ultrafine (Becton Dickinson – Indústrias Cirúrgicas Ltda, PR);
- Punch de biópsia 6 mm de diâmetro (Kolplast Ltda, SP);
- Beckers;
- Pinças cirúrgicas;
- Ponteiras;
- Balança semi-analítica (Denver Instrument Company XP-3000);
- Balança analítica (Bioprecisa FA2104N);
- Placa quente (Fanem Ltda);

- Centrífuga clínica (Sigma Laborzentrifugen);
- Microscópio eletrônico Olympus CX 40;
- Paquímetro digital Mytutoyo;
- Câmara de Neubauer
- Micropipetas;
- Cânula orogástrica.

4.6. Animais de experimentação

Foram utilizados camundongos machos (*Mus musculus*) Swiss albinos adultos, pesando entre 20 e 25g e ratos (*Ratus norvegicus*) machos, pesando entre 150-180 g, provenientes do Instituto Evandro Chagas (Belém/PA) e do Biotério Central do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFPA. Esses animais foram alojados no Biotério Setorial da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Pará, mantidos em gaiolas, sob condições controladas de temperatura (25°C) e ciclo de claro/escuro de 12 horas, a fase clara iniciando-se às 6h e terminando às 18h, com livre acesso a água e ração *ad libitum*.

Para a realização de cada teste, a ração era retirada 12 horas antes, mantendo-se a água *ad libitum* durante todo o período. As condições ambientais, onde foram realizados os experimentos, eram mantidas as mais confortáveis possíveis, evitando-se variação de temperatura e luminosidade.

Todos os experimentos foram complementados por grupos controle, nos quais os animais foram submetidos exatamente aos mesmos procedimentos que os grupos tratados.

As soluções de OEHc foram preparadas por adição de tween 80 1% v/v em água destilada, seguida de agitação manual. Foram administradas por via oral (v.o.), através de cânula orogástrica, em volume de 0,1mL/10 g (para camundongos) e 0,1mL/100 g (para os ratos) de peso de cada animal. Aos grupos controle foram administradas soluções de água destilada com tween 80.

O manuseio e uso dos animais estão de acordo com as normas institucionais (Parecer MED010/2008).

4.7. Experimentos *in vivo*

4.7.1. Avaliação de toxicidade aguda (DL₅₀)

Para se determinar a DL₅₀, foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) Swiss albinos machos divididos em grupos de 10 animais, pesando entre 20 e 25 g.

Os animais receberam, através de cânula orogástrica, 1000, 2000 e 5000 mg/kg (n = 10/grupo) de solução de OEHC. Em seguida, os animais foram observados por um período de 4 horas (h) para avaliação de possíveis alterações comportamentais.

Descrito por Malone e Robichaud (1962), este teste é realizado para observação dos parâmetros comportamentais como: atenção, alerta, analgesia, atividade motora espontânea, locomoção, falta de apetite, apatia, resposta ao tato, secreção nasal, piloereção, estereotipia, agressividade, ataxia, sudorese, micção, diarreia e convulsão.

Após este período, os animais foram tratados com ração e água *ad libitum* e observados por um período adicional de 24, 48 e 72 h. Os casos de morte foram anotados para cada grupo e expresso em percentual do número total de animais tratados.

4.7.2. Estudo da atividade antinociceptiva

4.7.2.1. Teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético

Descrito por Koster et al., (1959) este experimento consiste em induzir contorções por administração intraperitoneal (i.p.) de 0,1mL/10 g de peso (de camundongos) de ácido acético 0,6% v/v . As contorções dos animais foram caracterizadas por contração e rotação do abdômen, seguida pela extensão de uma ou ambas as patas traseiras. Os animais foram colocados sob funis de vidro de aproximadamente 22 cm de diâmetro. As contorções eram contadas por um período de 20 minutos (min) após 10 min da aplicação de ácido acético.

Foram utilizadas doses de 250 (n = 9), 350 (n = 10) e 500 mg/kg (n = 10) de OEHC, v.o., para o grupo tratado uma hora antes de se iniciar o teste. A droga padrão neste teste foi a Indometacina (5mg/kg) v.o., administrada uma hora antes do início do teste (n = 14).

4.7.2.2. Determinação da dose efetiva mediana (DE₅₀)

A determinação da DE₅₀ teve como base o teste das contorções induzidas pelo ácido acético em camundongos. Neste ensaio, os animais receberam, por via oral, OEHC uma hora antes da aplicação do estímulo. As doses utilizadas foram: 250, 350 e 500 mg/kg. A DE₅₀ foi determinada através da plotagem direta das doses utilizadas e as respectivas percentagens de inibição.

4.7.2.3. Determinação do índice terapêutico (IT)

O cálculo do índice terapêutico (IT) foi baseado nos valores da DL_{50} e da DE_{50} , através da equação: $IT=DL_{50}/DE_{50}$ (RAUBER et al., 2006). Para calcular este índice foram utilizados os valores da DL_{50} (5000 mg/kg) e da DE_{50} (364,22 mg/kg).

4.7.2.4. Teste da placa quente

A metodologia utilizada foi a descrita por (MACDONALD et al., 1946). Neste teste, os camundongos foram colocados sobre uma placa de alumínio aquecida à temperatura fixa ($50\pm 0,1^{\circ}C$) e observados em relação ao tempo em que levavam para manifestar uma resposta ao estímulo térmico. Esta resposta, medida em segundos (s), correspondia ao ato de lambe as patas ou saltar (latência). Antes de se iniciar o teste (24 horas antes), os animais foram submetidos ao estímulo, sendo selecionados os que levaram até 20 s para manifestá-lo.

Foi utilizada a dose de 364,22 mg/kg (dose esta correspondente à DE_{50}) (n = 09) de OEHC v.o. para o grupo tratado uma hora antes de se iniciar o teste. A droga padrão, administrada meia hora antes de se iniciar o teste, foi a morfina 10 mg/kg por via subcutânea (s.c.) (n = 10).

4.7.2.5. Teste da formalina

Este teste seguiu o modelo descrito por Hunskaar e Hole (1987). Consiste em administrar 20 μ L de formalina (formaldeído 1% em solução fisiológica 0,9%) no coxim plantar posterior direito dos camundongos. Os animais foram colocados individualmente sob funis de vidro com diâmetro de aproximadamente 22 cm após a administração da formalina, onde era observada a manifestação do estímulo pelo gesto de lambe, morder ou agitar vigorosamente a pata injetada. Estes gestos foram observados durante 30 min, sendo que a primeira fase foi nos cinco primeiros minutos e a segunda, do 15 $^{\circ}$ ao 30 $^{\circ}$ min.

Uma hora antes de se iniciar o teste, foi administrado 364,22 mg/kg de OEHC v.o. para o grupo tratado (n = 09). A droga padrão, administrada meia hora antes de se iniciar o teste, foi a morfina (4 mg/kg s.c.) (n = 10).

Com o objetivo de se verificar uma possível participação do sistema opióide na atividade antinociceptiva do OEHC, foi realizada a co-administração do óleo (364,22 mg/kg), uma hora antes da formalina, e do antagonista opióide naloxona (1mg/kg), 45 minutos antes da formalina (n = 10).

Para avaliar a ação do óleo com a morfina, foram administrados OEHC (364,22 mg/kg v.o.) uma hora antes da formalina e morfina (4mg/kg s.c.) meia hora antes (n = 11).

4.7.3. Estudo da atividade antiinflamatória

4.7.3.1. Dermatite induzida pelo óleo de Croton

Utilizou-se o método descrito por Tubaro et al. (1985). Neste teste, a dermatite foi induzida por 20 µL de uma solução de óleo de croton em acetona na superfície da orelha direita dos camundongos e, na orelha esquerda, 20 µL de acetona. Após seis horas, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. Em seguida, foram retirados fragmentos de 6 mm de diâmetro de cada orelha, utilizando-se um punch de biópsia e pesados os fragmentos em balança analítica. Os resultados foram obtidos pela diferença de peso da orelha direita (estimulada) e orelha esquerda (controle) expressa em miligramas (mg).

Foi utilizada a dose de 364,22 mg/kg de OEHC v.o. para o grupo tratado (n = 07) uma hora antes de se iniciar o teste. A droga padrão, administrada também uma hora antes, foi a dexametasona (10 mg/kg v.o.) (n= 08).

3.7.3.2. Edema de pata induzido por dextrana

Segundo WINTER et al., (1962) o edema de pata baseia-se na variação do volume das patas traseiras dos ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar, após a aplicação de algum estímulo inflamatório. Os animais foram separados em grupos de cinco, e uma hora antes da aplicação do agente inflamatório (0,1mL de dextrana 1%) foram tratados, por via oral, com 364,22 mg/Kg de OEHC ou ciproheptadina (5 mg/Kg) (n = 5), em volume final de 0,1 mL/100 g de peso do animal. Na região intraplantar da pata direita foi administrado dextrana e igual volume de solução salina na pata esquerda. Adaptada por ESTEVES et al., (2005), o desenvolvimento do edema foi avaliado, em milímetros, com auxílio de paquímetro digital Mitutoyo, medido imediatamente após a administração de dextrana e solução salina, em intervalos de 30 minutos, durante duas horas.

4.7.3.3. Edema de pata induzido por carragenina

Descrita por WINTER et al., (1962) os animais, ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar, foram separados em grupos de cinco e, uma hora antes da aplicação do agentes inflamatório (0,1mL de carragenina 1%), foram tratados, por via oral, com 364,22 mg/kg (n = 08) de OEHC e indometacina (10 mg/Kg) (n = 05), em volume final de 0,1 mL/100 g de peso do

animal. Na região intraplantar da pata direita, foram administrados carragenina e igual volume de solução salina na pata esquerda. As medições das patas foram feitas segundo a técnica descrita por ESTEVES et al., (2005) o desenvolvimento do edema foi avaliado, em milímetros, com auxílio de paquímetro digital Mitutoyo, medido imediatamente após a administração de carragenina e solução salina, em intervalos de uma hora, durante cinco horas.

4.7.3.4. Peritonite induzida por carragenina em ratos

Neste teste, utilizou-se a metodologia descrita por Souza e Ferreira (1985), na qual uma solução de carragenina em salina estéril (300 µg/mL), foi injetada na cavidade peritoneal dos ratos. A migração celular foi avaliada quatro horas após a aplicação do estímulo. Para isto, foram aplicados 10 mL de PBS na cavidade peritoneal após ter sacrificado os animais. Em seguida, realizaram-se as contagens total e diferencial de leucócitos contidos na mesma. Para realização da contagem total, 20 µL do lavado peritoneal foram diluídos em 380 µL da solução de Turk. Esta contagem foi realizada em câmara de Neubauer. Para a contagem diferencial, centrifugou-se o lavado peritoneal a 100 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi resuspenso em 0,4 mL em uma solução de albumina a 3% em PBS p/v. O esfregaço celular foi feito em lâmina própria, corando-se as células com o corante pancrômico de Rosenfeld e contadas em microscópio óptico, utilizando-se objetiva de imersão em óleo. Foram contadas 100 células em cada lâmina, diferenciando-as em: neutrófilos, eosinófilos, macrófagos e linfócitos. O número de células diferenciadas foi calculado pelo percentual encontrado em relação ao número total de células. Os resultados obtidos na contagem diferencial foram expressos como número de neutrófilos por mL do lavado peritoneal.

Os resultados são expressos como média ± E.P.M. (erro padrão da média) do número de células x 10⁶/mL de fluido peritoneal.

Foi utilizada a dose de 364,22 mg/kg (n = 06) de OEHc v.o. para o grupo tratado uma hora antes de se iniciar o teste, assim como a droga padrão dexametasona 1 mg/kg (n = 06) i.p.

4.8. Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média ± E.P.M. (erro padrão da média), onde n representa o número de animais. Os resultados que apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese de nulidade menor que 5% ($P < 0,05$) foram considerados estatisticamente significantes. Para comparação das médias foram utilizados ANOVA (Análise de variância

one-way) seguida de um método de múltiplas comparações (Teste de Student-Newman-Keuls ou teste "t" de Student). A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa estatístico Sigma Stat[®].

5 – RESULTADOS

5.1. Obtenção do óleo essencial e identificação dos constituintes químicos

O óleo essencial, extraído por hidrodestilação, apresentou rendimento de 0,6%.

Foram identificados cerca de 99,9% da composição química do óleo essencial, com predominância de monoterpenos 94,5%, sendo encontrados em maior concentração 1,8 – cineol (34%), α -pineno (26%) e β -pineno (11,4%).

A quantidade relativa de cada constituinte com seus respectivos índices de retenção (IR) estão mostrados na tabela 1, Anexo.

Tabela 1. Composição química do óleo essencial de *H. crenata* e quantidade relativa de cada constituinte.

Constituintes	IR	Quantidade relativa %
α -pineno	0939	26,1
β -pineno	0979	11,4
α -felandreno	1003	0,2
1,8 –cineol	1031	34
α -terpineno	1017	0,2
p-cimeno	1025	0,5
Limoneno	1029	0,5
γ -terpineno	1060	1,5
Hidrato de trans-sabineno	1098	0,1
Terpinoleno	1177	0,6
Linalol	1097	0,4
Exo-fenchol	1122	0,2
Endo-fenchol	1117	0,2
Cânfora	1146	10
Hidrato de canfeno	1150	-

Tabela 1. Composição química do óleo essencial de *H. crenata* e quantidade relativa de cada constituinte. (Continuação)

Isoborneol	1162	0,1
Borneol	1169	4,8
4-terpineol	1177	0,9
α -terpineol	1189	2,3
Metil-timol	1235	0,4
Timol	1290	0,1
Acetato de isobornila	1286	-
Carvacrol	1299	0,1
α -longipineno	1353	0,5
Isoledeno	1376	-
α -copaeno	1377	-
β -cariofileno	1499	0,7
Aromadendreno	1441	0,1
Seicheleno	1447	0,1
Alo-aromadendreno	1460	0,8
Cis-eudesma-6,11-dieno	1490	0,1
Deidro-aromadendreno	1463	0,2
γ -himachaleno	1486	0,1
Viridifloreno	1497	0,3
β -himacheleno	1505	0,2
Espatulanol	1578	0,1
Óxido de cariofileno	1583	0,1
Globulol	1585	0,2
Veridiflorol	1593	1,4

Tabela 1. Composição química do óleo essencial de *H. crenata* e quantidade relativa de cada constituinte. (Continuação)

β -eudesmol	1651	0,1
10-epi- γ -eudesmol	1624	0,4

Quantidade relativa de cada constituinte do óleo essencial de *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth. com seus respectivos índices de retenção (IR).

5.2. Toxicidade aguda (DL₅₀)

Nos camundongos, as mudanças comportamentais observadas foram: quietação e dificuldade de locomoção.

Não houve morte dos animais na dose de 1000 mg/kg, porém nas doses de 2000 e 5000 mg/kg a percentagem de morte foi de 20% e de 50% respectivamente, desta forma, fica determinado o valor da DL₅₀ que é 5000 mg/kg (Figura 2).

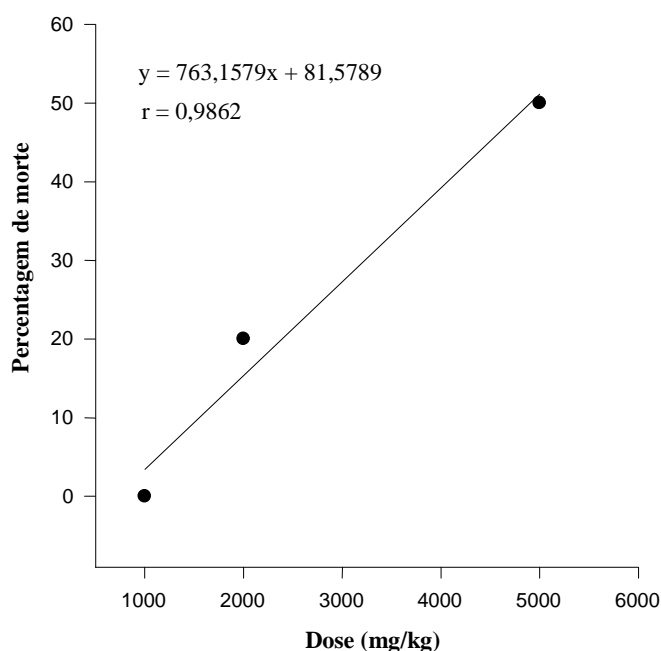


Figura 2. Determinação da DL₅₀ em camundongos do efeito da administração do OEHC (1000, 20000 e 5000 mg/kg v.o.). Ordenadas: Percentagem de morte. Abscissas: Doses utilizadas em mg/kg.

r – coeficiente de correlação.

5.3. Efeito do OEHc sobre o estímulo nociceptivo induzido por ácido acético

A administração oral de OEHc nas doses de 250, 350 e 500mg/kg uma hora antes da aplicação i.p. de ácido acético 0,6% reduziu significativamente o número de contorções abdominais, de forma dose-dependente, quando comparadas ao grupo controle em 22,56%, 60,76% e 75,53%, respectivamente. A indometacina, droga que inibe a síntese de prostaglandinas, reduziu em 75,26% o número de contorções em relação ao grupo controle (Figura 3; Anexo).

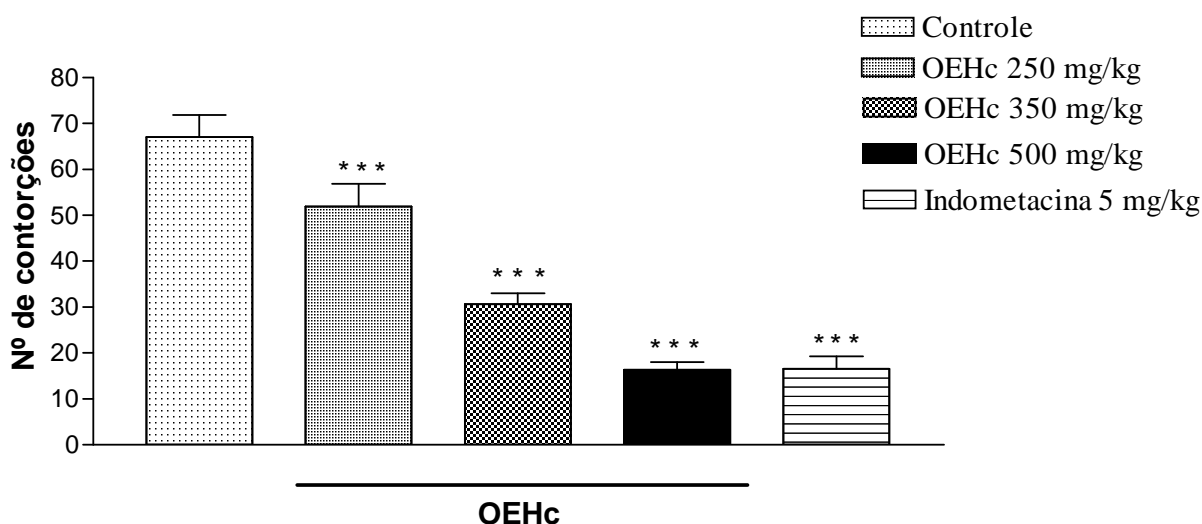


Figura 3. Efeito do OEHc (250, 350, 500 mg/kg v.o.) e da indometacina (5 mg/kg v.o.) sobre o estímulo nociceptivo induzido por ácido acético 0,6% em camundongos. Cada coluna representa média \pm E.P.M. (erro padrão da média). *** $P < 0,001$ quando comparado ao grupo controle; ANOVA; Teste Student Newman-Keuls.

5.4. Determinação da dose efetiva mediana (DE_{50})

O OEHc, nas doses de 250, 350 e 500 mg/kg reduziu em 22,57 %, 54,32 % e 75,52 %, respectivamente, as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, quando comparadas ao grupo controle. A DE_{50} encontrada foi de 364,22 mg/kg e o coeficiente de correlação igual a 0,9341 (Figura 4).

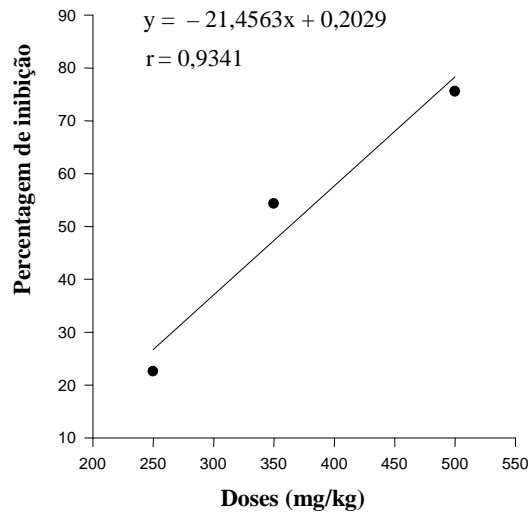


Figura 4. Determinação da DE_{50} em camundongos através da regressão linear do efeito da administração do OEHc (250, 350 e 500 mg/kg v.o.) sobre as contorções induzidas por ácido acético 0,6% i.p. r – coeficiente de correlação.

5.5. Determinação do índice terapêutico (IT)

O índice terapêutico, calculado através da equação: $IT = 5000/364,22$ apresentou um valor de 13,73.

5.6. Efeito do OEHc sobre o estímulo nociceptivo induzido na placa quente

O tratamento com OEHc v.o. uma hora antes da estimulação térmica, não foi capaz de aumentar o tempo de resposta (latência) ao estímulo térmico quando comparado ao grupo controle. Porém, a morfina, um analgésico opioide, aumentou significativamente o tempo de latência em relação ao grupo controle nos tempos 30, 60, 90 e 120 min (Figura 5; Anexo).

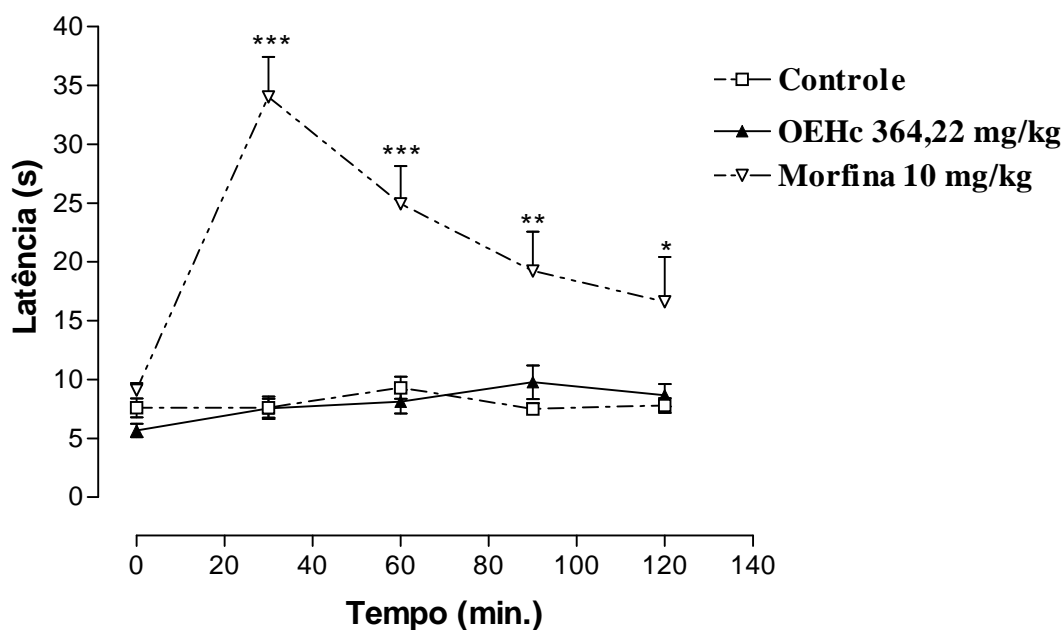


Figura 5. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e da morfina (10 mg/kg s.c.) sobre o estímulo nociceptivo térmico ($55 \pm 0,1^\circ\text{C}$) induzido em camundongos.

Cada ponto representa média \pm E.P.M. (erro padrão da média) de dez animais. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ quando comparado ao grupo controle; ANOVA, teste "t" de Student.

5.7. Efeito do OEHc sobre o teste da formalina

Neste teste, a dose de 364,22 mg/kg de OEHc foi capaz de reduzir significativamente o tempo de lambida, em relação ao grupo controle, na primeira fase em 26,49% (Figura 6, Anexo) e na segunda fase em 43,39% (Figura 7, Anexo). A morfina foi capaz de reduzir significativamente o tempo de lambida nas duas fases 81,85% (1ª fase) e 94,25% (2ª fase). Porém, o OEHc não teve efeito aditivo quando administrado junto à morfina.

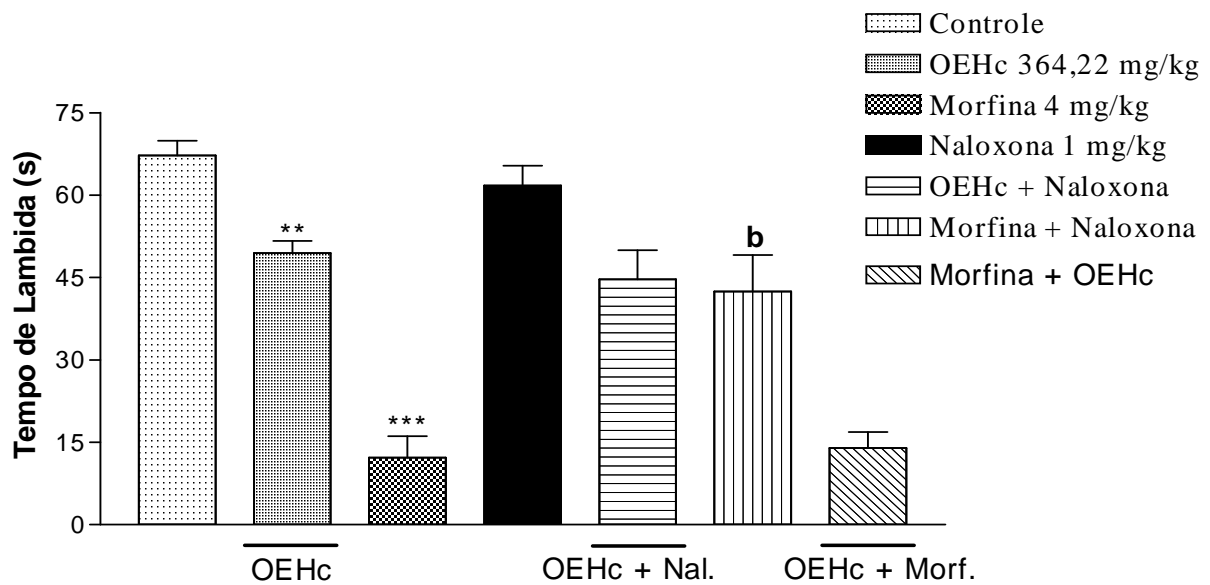


Figura 6. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e da morfina (4 mg/kg s.c.) sobre o teste da formalina na primeira fase.

Cada grupo representa média ± E.P.M. (erro padrão da média). ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ quando comparado ao grupo controle; b ($P < 0,001$) quando comparado ao agonista mais antagonista versus agonista sozinho; ANOVA, Teste Student Newman-Keuls.

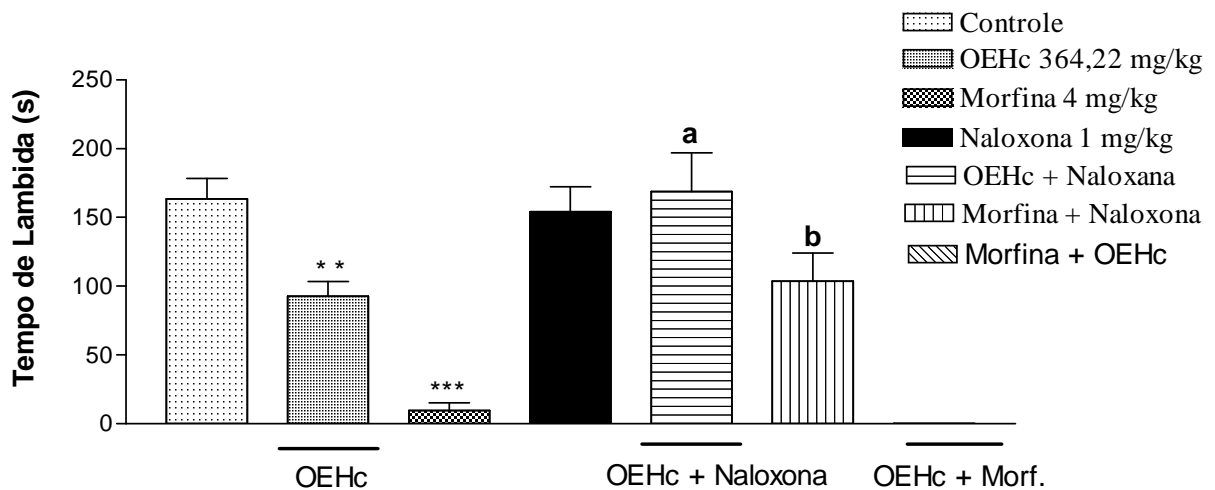


Figura 7. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e da morfina (4 mg/kg s.c.) sobre o teste da formalina na segunda fase.

Cada grupo representa média ± E.P.M. (erro padrão da média). ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ quando comparado ao grupo controle, a e b ($P < 0,001$) quando comparado ao agonista mais antagonista versus agonista sozinho; ANOVA, Teste Student Newman-Keuls.

5.8. Efeito do OEHc sobre a dermatite induzida pelo óleo de croton

A administração oral de 364,22 mg/kg de OEHc foi capaz de inibir significativamente a dermatite induzida pelo óleo de croton em 44,26% em relação ao grupo controle. A dexametasona inibiu em 92,85% (Figura 8, Anexo).

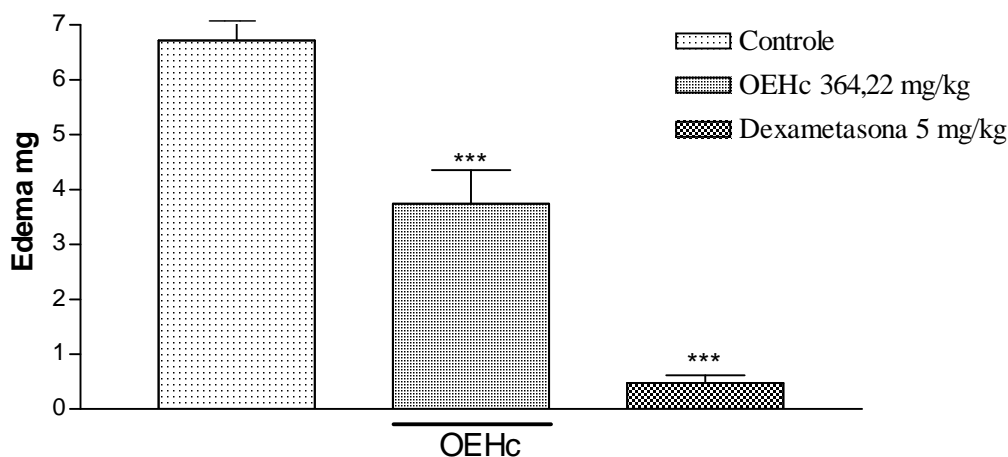


Figura 8. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e da dexametasona (5 mg/kg v.o.) sobre a dermatite induzida pelo óleo de croton em camundongos.

Cada grupo representa média \pm E.P.M. (erro padrão da média). *** $P < 0,001$ quando comparado ao grupo controle; ANOVA, Teste Student Newman-Keuls.

5.9. Edema de pata induzido por dextrana

A administração de OEHc (364,22 mg/kg v.o.) reduziu o edema induzido por dextrana 1% em 62,04% , 75,59%, 76,44%, 74,55% nos tempos de 30, 60, 90 e 120 minutos, respectivamente, quando comparada ao grupo controle. A ciproeptadina foi capaz de reduzir o edema em 77,96%, 87,46%, 93,6%, 94,55% nos tempos de 30, 60, 90 e 120 minutos, respectivamente (Figura 9; Anexo).

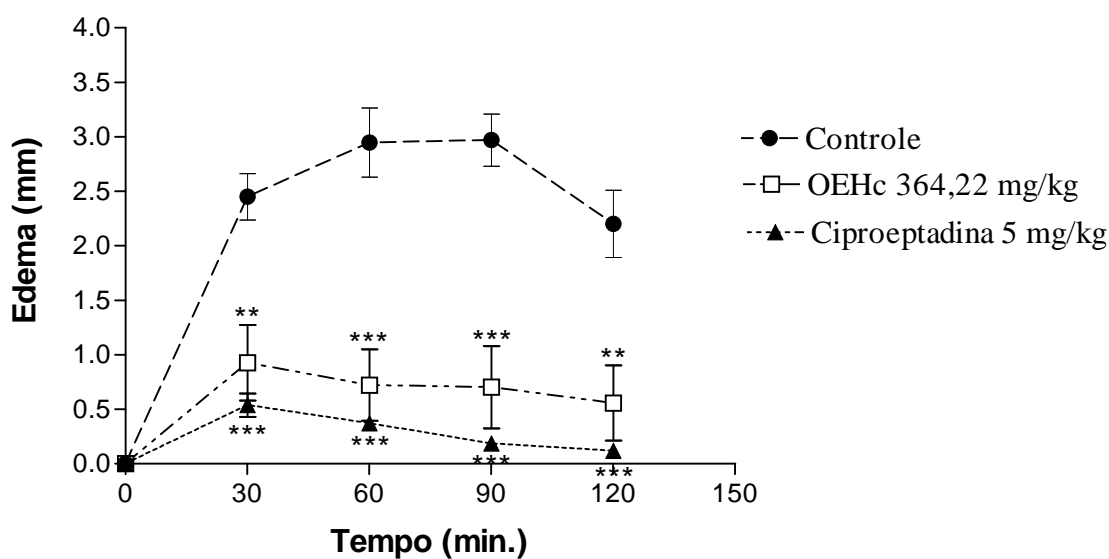


Figura 9. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg, v.o.) e ciproheptadina (5 mg/kg, v.o.) sobre o edema induzido por dextrana (1000 μ g/pata) em ratos .

Cada grupo representa média \pm E.P.M. (erro padrão da média). ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ quando comparado ao grupo controle; ANOVA, teste "t" de Student.

5.10. Edema de pata induzido por carragenina

A administração de OEHc (364,22 mg/kg v.o.) não foi capaz de reduzir o edema induzido por carragenina 1%. Já a indometacina (10 mg/kg, v.o.) foi capaz de reduzir o edema em 52,66%, 67,27%, 61,49%, 64,51%, 65,86% nos tempos de 1, 2, 3, 4 e 5 horas, respectivamente, quando comparada ao grupo controle (Figura 10, Anexo).

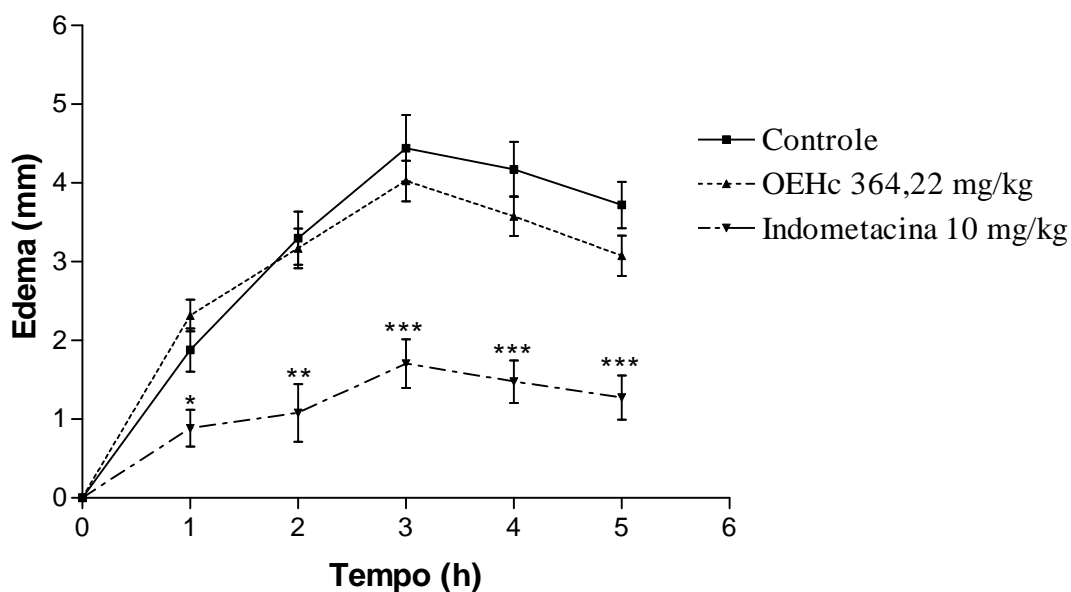


Figura 10. Efeito do OEHc (364,22 mg/kg, v.o.) e indometacina (5 mg/kg, v.o.) sobre o edema induzido por carragenina (1000µg/pata) em ratos .

Cada grupo representa média ± E.P.M. (erro padrão da média). * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ *** $P < 0,001$ quando comparado ao grupo controle; ANOVA, teste "t" de Student.

5.11. Peritonite em ratos induzida por carragenina

Neste teste, a concentração de leucócitos após 4 horas aumentou para $7,97 \times 10^6$ células/mL, definido como 100% de migração de leucócitos. Já a concentração de neutrófilos após 4 horas da administração da carragenina aumentou para $6,88 \times 10^6$ células/mL, também definido como 100% de migração de neutrófilos. Quando os animais foram tratados com OEHc (364,22 mg/kg, v.o.) ou dexametasona (1 mg/kg, i.p.) houve uma diminuição significativa do número total de leucócitos em 47,55% e 63,24%, respectivamente (Figura 11, Anexo) e do número de neutrófilos em 66,47% e 91%, respectivamente (Figura 12, Anexo) demonstrando inibição das células envolvidas no processo inflamatório induzido por carragenina.

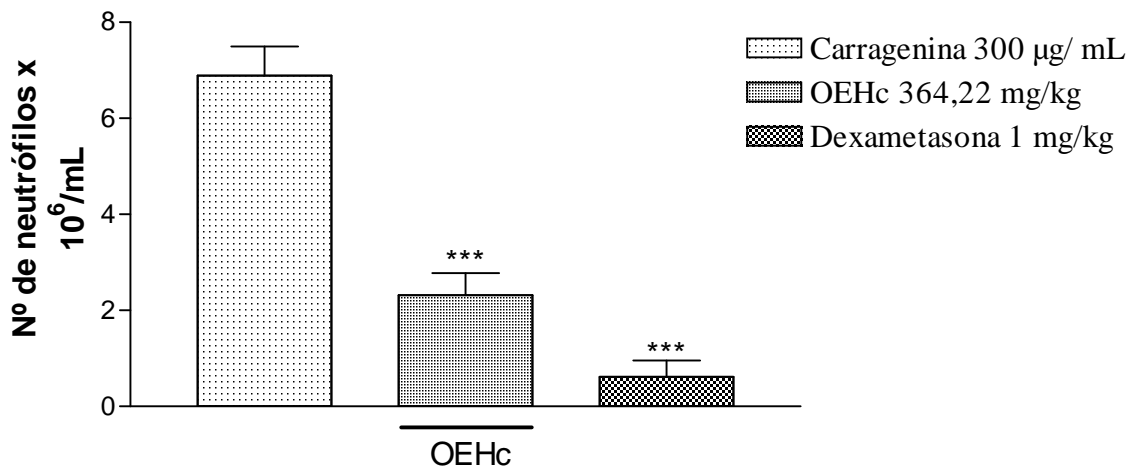


Figura 11. Efeito de administração OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e dexametasona (1 mg/kg i.p.) na inflamação aguda induzida por carragenina, medida pela concentração de leucócitos no fluido peritoneal (peritonite).

Cada grupo representa média ± E.P.M. (erro padrão da média), de 6 animais. ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ quando comparado ao controle; (ANOVA, Teste de Student Newman Kuels).

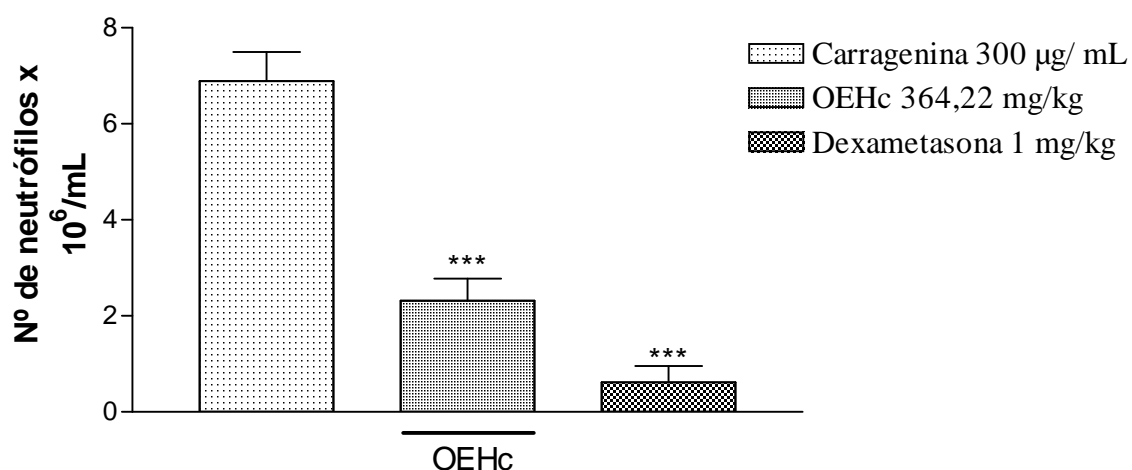


Figura 12. Efeito de administração de OEHc (364,22 mg/kg v.o.) e dexametasona (1 mg/kg, i.p.) na inflamação aguda induzida por carragenina, medida pela concentração de neutrófilos no fluido peritoneal (peritonite).

Cada grupo representa média ± E.P.M. (erro padrão da média), de 6 animais. *** $p < 0,001$ quando comparado ao controle; ANOVA, Teste Student Newman Kuels.

6 – DISCUSSÃO

Hyptis crenata (Pohl) ex Benth. é uma planta rasteira encontrada na foz do rio Amazonas, no arquipélago do Marajó, nos estados do Pará e Amapá (MAIA et al., 2001). O chá de suas folhas é popularmente usado como antiinflamatório (BERG, 1993).

Foi demonstrado por REBELO (2006) que o extrato dessa planta possui um alto poder antioxidante e citotóxico, reforçando a importância dos produtos naturais como fonte de novos fármacos.

A análise do OEHc através de CGL e CG-EM mostrou que há um predomínio de monoterpenos (94,5%) em relação aos outros constituintes. Este resultado corrobora com os resultados obtidos por Scramin et al., (2000), demonstrando que o perfil cromatográfico deste óleo é semelhante ao encontrado na literatura. Sabe-se que compostos monoterpênicos estão envolvidos com a atividade antiinflamatória (Silva et al., 2003; Heras et al., 2003; Santos et al., 2004) e antinociceptiva (SILVA et al., 2006; SOUSA et al., 2007).

As doses utilizadas para a realização dos testes foram bem inferiores em relação à DL_{50} . Além disso, o OEHC apresentou um alto índice terapêutico, ou seja, 13,73. De acordo com Yacubian (2007), uma droga é considerada como de índice ou faixa terapêutica estreita quando a relação entre a concentração tóxica mais baixa, na qual comumente ocorre toxicidade clínica, e a concentração que provê efeito terapêutico é ≥ 2 . Desta forma, os altos valores da DL_{50} e do índice terapêutico demonstram que as doses utilizadas para os testes foram seguras e não tóxicas para os animais.

Atualmente, o uso clínico de novas substâncias com atividade analgésica utilizadas principalmente para o tratamento de vários tipos de dor (tanto de origem neurogênica quanto inflamatória), vem aumentando significativamente. Vários modelos de nocicepção em animais de laboratórios podem ser utilizados para verificar atividade analgésica de extratos e compostos. No entanto, esses modelos possuem características próprias, que devem ser consideradas, tais como simplicidade, reprodutibilidade e validade dos resultados obtidos e principalmente, a possibilidade de serem correlacionados com estudos clínicos (DICKENSON; BESSON, 1997; PIETROVSKI, 2004).

No presente estudo, para a avaliação da atividade antinociceptiva, foram utilizados modelos de estudo baseados em estímulo nociceptivo químico, como a formalina e o ácido acético, e estímulo térmico (placa quente).

A resposta das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético é amplamente utilizada para identificar possível participação na atividade antinociceptiva periférica dos compostos (GUZZO et al., 2008). O ácido acético age liberando mediadores endógenos que estimulam os neurônios nociceptivos. Em camundongos provoca, em nível peritoneal, um aumento nos níveis de PGE_2 e $PGF_{2\alpha}$, serotonina, histamina (DERAEDT et al., 1980), liberação de bradicinina e citocinas, como, $TNF-\alpha$ e IL-8 (RIBEIRO et al., 2000).

Neste teste, o OEHC foi capaz de reduzir significativamente essas contorções em todas as doses utilizadas, demonstrando um efeito dose-dependente, com uma DE_{50} de 364,22 mg/kg e inibição de 75,53 % na dose de 500 mg/kg. Este resultado demonstra um efeito antinociceptivo periférico, interferindo com a fase aguda do processo inflamatório.

Embora as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético representem um modelo de nocicepção periférica, o qual consiste em estímulos de alta intensidade e a resposta nociceptiva de curta duração, este não é um modelo específico, uma vez que diferentes classes de substâncias também inibem as contorções como: hipotensores, depressores e estimulantes do sistema nervoso, anti-histamínicos e antidepressivos tricíclicos (BRAGGIO et al., 2002).

Portanto, a interpretação da redução da dor através do estímulo pelo ácido acético, deve ser conduzida de forma cautelosa e levando-se em consideração os resultados de outros testes.

O teste da placa quente caracteriza-se por apresentar uma resposta rápida ao estímulo nocivo, mediada pela ativação dos nociceptores (fibras C e A δ), conduzindo o impulso ao corno dorsal da medula espinhal e posteriormente aos centros corticais, sendo que a resposta é proporcional à frequência e classe de fibras responsáveis pela mensagem (DICKENSON; BESSON, 1997). Neste teste, o OEHc não foi capaz de aumentar significativamente o tempo em que os animais permaneciam sobre a placa aquecida, não demonstrando, assim, atividade analgésica central.

Para confirmar a atividade analgésica do OEHc, foi realizado o teste da formalina, que é mais específico e muito utilizado para o estudo de nocicepção. Este teste representa um modelo de estudo de dor moderada e tônica (HUNSKAAR et al., 1985). Apresenta duas fases distintas, as quais refletem dois tipos diferentes de dor. A primeira fase (dor neurogênica) tem sido atribuída ao efeito direto e imediato do agente flogístico sobre fibras aferentes nociceptivas (CHICHORRO et al., 2004; SILVA et al., 2006), enquanto a segunda fase representa um tipo de dor inflamatória (HUNSKAAR e HOLE, 1987), caracterizada pelo surgimento de um processo inflamatório local, onde são produzidos mediadores da inflamação.

Fármacos antiinflamatórios, esteroidais e não-esteroidais, reduzem a resposta dos animais apenas na segunda fase do teste da formalina, exceto o ácido acetilsalicílico e o paracetamol, os quais são eficazes em ambas as fases (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

Neste teste, o OEHc foi capaz de reduzir a dor durante as duas fases do processo algico. Na primeira fase, o OEHc inibiu em 26,49% o tempo de lambida, sendo mais pronunciada na segunda fase, 43,39%. A ação do OEHc durante o desenvolvimento da dor neurogênica, sugere uma ação direta sobre as fibras aferentes nociceptivas, que pode reduzir o limiar de estimulação dos neurônios do corno dorsal (RODOLPH & PETERS, 1997), através do antagonismo a canais iônicos para ácidos; a receptores vanilóides e/ou de glutamato localizados nas fibras aferentes (SMIDERLE et al., 2008).

A inibição do processo algico durante a fase inflamatória sugere a existência de substâncias no óleo que possam de atuar sobre as terminações nervosas periféricas, através da inibição de ciclooxygenases (ASONGALEM et al., 2004; NOGUEIRA, 2004).

Adicionalmente, o efeito analgésico do OEHc parece ser decorrente de mecanismos que dependem da ativação do sistema opióide, uma vez que a naloxona, um antagonista opióide, foi capaz de reverter o efeito do OEHc na segunda fase.

A possível atividade antiinflamatória paralela à ação analgésica do OEHC foi testada através dos modelos da dermatite induzida pelo óleo de croton em camundongos, edema de pata desenvolvido por dextrana e carragenina e peritonite induzida por carragenina, em ratos.

A dermatite induzida pelo óleo de croton, em orelhas de camundongo, representa um modelo muito útil para estudar a atividade antiinflamatória de drogas esteroidais e não-esteroidais (TUBARO et al., 1985; GOMIG et al., 2008). A aplicação local deste óleo envolve a ativação da fosfolipase A₂ e, conseqüentemente, biossíntese de prostaglandinas e leucotrienos (MELO et al., 2006). Também induz uma resposta inflamatória significativa, caracterizada por edema, infiltração de neutrófilos e aumento da permeabilidade vascular. A maioria das atividades do óleo de croton parece estar envolvida com metabólitos do ácido araquidônico (ZHANG et al., 2007).

Os resultados demonstram que o OEHC foi capaz de inibir o desenvolvimento do edema de orelha na dose de 364,22 mg/kg, podendo sugerir que este óleo atue sobre a fosfolipase A₂ e conseqüentemente, impedindo a liberação dos metabólitos do ácido araquidônico assim como a formação do edema, infiltração e proliferação celular (OTUKI et al., 2005).

A dextrana, utilizada no teste do edema de pata em ratos, é um polissacarídeo que provoca liberação de histamina e serotonina dos mastócitos durante a formação do edema (CARVALHO et al. 1999; ANDRADE et al., 2007), interagindo com seus respectivos receptores (H₁, H₂ e 5HT₂) que residem no endotélio dos micro-vasos.

O OEHC reduziu de forma significativa em todos os tempos o edema provocado pela dextrana, sugerindo que este óleo possua uma atividade sobre os eventos vasculares da inflamação possivelmente pela supressão na liberação de histamina e serotonina pelos mastócitos e/ou pela ação sobre os receptores histaminérgicos (ROOME et al., 2008).

O edema induzido por carragenina é comumente utilizado como modelo de inflamação aguda (GUPTA et al., 2003), que provoca um edema em três fases (DI ROSA et al., 1971), rico em proteínas e neutrófilos (GUPTA et al., 2003; ZHANG et al., 2007). A primeira hora é caracterizada pelo aumento da permeabilidade vascular, mediada pela histamina e serotonina. Na segunda hora, este aumento é mediado por cininas. O pico máximo do edema ocorre na terceira hora após a injeção de carragenina, que é caracterizado pela ação de prostaglandinas sobre a permeabilidade vascular (DI ROSA e WILLOUGHBY, 1971).

Apesar do OEHC não ter tido um efeito inibitório sobre o edema induzido por carragenina, foi demonstrado que este óleo possa ter atividade sobre a liberação de histamina e serotonina, efeito observado no teste do edema induzido por dextrana. Talvez houvesse a necessidade de utilizar doses maiores para observar um efeito inibitório.

O método da peritonite induzida por carragenina permite avaliar a evolução da migração leucocitária para a cavidade peritoneal. A peritonite avalia a migração leucocitária, por meio da contagem de leucócitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$) presentes no exsudato liberado na cavidade peritoneal, após a administração de carragenina, 4 horas antes da contagem das células. A infiltração de leucócitos no local da inflamação agrava a reação inflamatória produzindo quantidades excessivas de enzimas proteolíticas, espécies reativas de oxigênio, eicosanóides e citocinas, causando danos ao tecido (ROOME et al., 2008).

Os resultados obtidos sugerem que o OEHC inibe a migração de leucócitos e neutrófilos na cavidade peritoneal provavelmente através da diminuição da vasodilatação dos capilares presentes na membrana peritoneal e da abertura de grandes poros causada por células e mediadores inflamatórios como neutrófilos e prostaglandina E_2 (PAULINO et al. 2008).

Este estudo sugere que o óleo essencial de *Hyptis crenata* (Pohl) ex. Benth. apresenta efeito antinociceptivo, o qual pôde ser detectado em modelos de estudo baseados em estímulo nociceptivo químico, como a formalina e o ácido acético, mas não em modelos com estímulo térmico (placa quente). Indicam, também, uma atividade antiinflamatória demonstrada nos testes da dermatite induzida pelo óleo de croton, edema de pata induzido por dextrana e peritonite induzida pela carragenina. Estas atividades provavelmente estão relacionadas à presença de compostos monoterpênicos, que representam como o 94,5% deste óleo.

7 – CONCLUSÃO

O presente trabalho demonstra que o óleo essencial de *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth., além da boa margem de segurança, apresenta um efeito antinociceptivo e antiinflamatório provavelmente devido à:

- redução do número de contorções induzidas por ácido acético;
- atenuação da resposta da 1ª fase (neurogênica) e da 2ª fase (inflamatória) no teste da formalina, além da reversão do efeito do OEHC causada pela naloxona;
- inibição do desenvolvimento do edema de orelha, em camundongos, induzido pelo óleo de croton;
- inibição do edema de pata induzido pela dextrana;
- inibição da peritonite induzido pela carragenina.

Desta forma, estes resultados sugerem que as atividades antinociceptiva e antiinflamatória do óleo essencial de *Hyptis crenata* possam ser consequência de uma inibição da liberação de histamina, serotonina ou por agir sobre seus receptores; pela inibição da fosfolipase A₂ e/ou ciclooxygenases e pela atuação sobre as fibras aferentes nociceptivas e receptores opióides. Estas prováveis ações podem ser devido aos compostos monoterpênicos presentes neste óleo (94,5%), porém outros estudos são necessários para confirmar esta hipótese.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, M. R. J. R.; COSTA, S. M. O.; BANDEIRA, P. N.; SANTIAGO, G. M. P.; NETO, M. A.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. **Nematicidal and larvicidal activities of the essential oils from aerial parts of *Pectis oligocephala* and *Pectis apodocephala* Baker.** Academia Brasileira de Ciências, v.79, n.2, 2007, p. 209-213.

ANDRADE, S. F.; CARDOSO, L. G. V.; CARVALHO, J. C. T. ; BASTOS, J. K. **Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*.** Journal of Ethnopharmacology, v. 109, 2007, p. 464–471.

ARAICO, A.;TERENCIO, M. C.; ALCARAZ, M. J.; DOMÍNGUEZ, J. N.; LEÓN, C.; FERRÁNDIZ, M. L. **Evaluation of the anti-inflammatory and analgesic activity of Me-UCH9, a dual cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitor.** Life Sciences, v. 80, 2007, p. 2108–2117.

ARRIGONI-BLANK, M. F.; ANTONIOLLI, A. R.; CAETANO, L. C.; CAMPOS, D. A.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B. **Antinociceptive activity of the volatile oils of *Hyptis pectinata* L. Poit. (Lamiaceae) genotypes.** Phytomedicine, v. 15, n. 5, 2008, p. 334-339.

ASONGALEM, E. A.; FOYET, H.S.; NGOGANG, J.; FOLEFOC, G. N.; DIMO, T.; KAMTCHOUING, P. **Analgesic and antiinflammatory activities of *Erigeron floribundus*.** Journal of Ethnopharmacology, v. 91, 2004, p. 301-308.

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

BATISTA, P. A.; WERNER, M. F. de P.; OLIVEIRA, E. C.; BURGOS, L.; PEREIRA, P.; BRUM, F. F. da s.; SANTOS, A. R. S. dos. **Evidence for the involvement of ionotropic glutamatergic receptors on the antinociceptive effect of (–)-linalool in mice.** Neuroscience Letters, v. 440, 2008, p. 299–303.

BERG, M. E., van den. **Plantas Medicinais da Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático.** Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi, 1993, p. 207.

BARBOSA-FILHO, J. M.; PIUVEZAM, M. R.; MOURA, M. D.; SILVA, M. S.; LIMA, K. V. B.; CUNHA, E. V. L. da; FECHINE, I. M.; TAKEMURA, O. S. **Anti-inflammatory activity of alkaloids: A twenty-century review.** Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2006, v. 16, n. 1, p.109-139.

BERTOLD, F. C.; GONZAGA, L.; REIS, V. D. A. dos. **Características físico-químicas do mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera scutellata*), com florada predominante de hortelã-do-campo (*Hyptis crenata*), produzido no Pantanal.** IV Simpósio sobre recursos Naturais e Sócio-econômicos do pantanal. Corumbá, 2004.

BORDIGNON, S. A. L. **O Gênero *Hyptis* Jacq. (Labiatae) no Rio Grande do Sul.** Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul. 1990, p. 123.

BRAGGIO, M. M.; LIMA, M. E. L.; VEASEY, E. A.; HARAGUCHI, M. **Atividades farmacológicas das folhas da *sesbania virgata* (Cav.) Pers.** Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 69, n.4, 2002, p.49-53.

BUENO, A. X.; MOREIRA, A. T. S.; SILVA, F. T.; ESTEVAM, C. S., MARCHIORO, M. **Effects of the aqueous extract from *Hyptis pectinata* leaves on rodent central nervous system.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, 2006, p. 317-323.

CAMPBELL, J. N.; MEYER, R. A. **Mechanisms of Neuropathic Pain.** Neuron, v. 52, 2006, p. 77-92.

CAPONE, M. L.; TACONELLI, S.; SCIULLI, M. G.; PATRIGNANI, P. **Clinical pharmacology of selective COX-2 inhibitors.** International Journal of Immunophatology & Pharmacology, v.16, n. 2, 2003, p. 49-58.

CAROBREZ, A. de P. **Transmissão pelo glutamato como alvo molecular na ansiedade.** Revista Brasileira de Psiquiatria, v. 25, 2003, p. 52-58.

CARVALHO, J. C. T.; SERTIÉ, J. A. A.; BARBOSA, M. V. J.; PATRÍCIO, K. C. M.; CAPUTO, L. R. G.; SARTI, S. J.; FERREIRA, L. P.; BASTOS, J. K. **Anti-inflammatory activity of the crude extract from the fruits of *Pterodon emarginatus* Vog.** Journal of Ethnopharmacology, v. 64, 1999, p. 127-133.

CARVALHO, W. A.; CARVALHO, R. D. S.; RIOS-SANTOS, F. **Analésicos inibidores específicos da ciclooxigenase-2: avanços terapêuticos. Artigo de revisão.** Revista Brasileira de Anestesiologia, v. 54, n. 3, 2004, p. 448-464.

CERQUEIRA, MARTINS DE de.; SOUZA-NETA, L. C.; PASSOS, M. das G. V. M.; LIMA, E. de O.; ROQUE, N. F.; MARTINS, D.; GUEDESC, M. L. S.; CRUZ, F. G. **Seasonal Variation and Antimicrobial Activity of *Myrcia myrtifolia* Essential Oils.** Journal Brazilian Chemical Society, v. 18, n. 5, 2007, p. 998-1003.

CHICHORRO, J. G.; LORENZETTI, B. B.; ZAMPRONIO, A. R. **Involvement of bradykinin, cytokines, sympathetic amines and prostaglandins in formalin-induced orofacial nociception in rats.** British Journal of Pharmacology, v. 141, 2004, p. 1175–1184.

CORRÊA, P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Ministério da Agricultura – Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. RJ, v. 6, 1984, p. 24.

COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; ANGÉLICO, E. C.; SILVA, M. R. ; MOTA, M. L.; SANTOS, N. K. A.; CARDOSO, A. L. H.; LEMOS, T. L. G. **Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 15, 2005, p. 304-309.

DERAED, R.; JOUQUEY, S.; DELEVALLEE, F.; FLAHAUT, M. **Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition.** European Journal of Pharmacology, v. 61, 1980, p. 17-24.

DI ROSA, M.; WILLOUGHBY, D.A. **Screens of anti-inflammatory drugs.** Journal of Pharmacy and Pharmacology, v.23, n.4, 1971, p.297-298.

DI ROSA, M.; GIROUD, J. P.; WILLOUGHBY, D. A. **Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine.** The Journal of Pathology, v. 104, n.1, 1971, p. 15-28.

DICKENSON, A.; BESSON, J. M. **The pharmacology of pain.** Berlin: Springer, 1997.

DOAK, G.J.; SAWYNOK J. **Formalin-induced nociceptive behavior and edema: involvement of multiple peripheral 5-hydroxytryptamine receptor subtypes.** Neuroscience, v. 80, 1997, p. 939-949.

DORDEVIC, S.; PETROVIC, S.; DOBRIC, S.; MILENKOVIC, M.; VUCICEVIC, D.; ZIZIC, S.; KUKIC, J. **Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil.** Journal of Ethnopharmacology, v. 109, 2007, p. 458–463.

DRESSLER, D.; SABERI, F. A.; BARBOSA, E. R. **Botulinum toxin: mechanisms of action.** Arquivos de Neuro-Psiquiatria, v. 63, n. 1, 2005, p. 180-185.

DUFFY, D. M.; SEACHORD, C. L.; DOZIER, B. L. **An Ovulatory Gonadotropin Stimulus Increases Cytosolic Phospholipase A2 Expression and Activity in Granulosa**

Cells of Primate Perioovulatory Follicles. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 90, n. 10, 2005, p. 5858–5865.

EDWARDS, J. W. C., SEDGEWICK, A. D., WILLOUGHBY, D. A. **The formation of a structure with features of synovial lining by subcutaneous injection of air: an *in vivo* tissue cultures system.** Journal of Pathology, v.134, n.2, 1981, p. 147-153.

ESTEVES, I.; SOUZA, I. R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L. G. V.; SANTOS, L. S.; SERTIE, J. A. A.; PERAZZO, F. F.; LIMA, L. M.; SCHNEEDORF, J. M.; BASTOS, J. K.; CARVALHO, J. C. T. **Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw.** Journal of Ethnopharmacology, v. 101, 2005, p. 191–196.

FALCÃO, D. Q. **Estudo Químico e Farmacológico de Quatro Espécies de *Hyptis* do Estado do Rio Grande do Sul** - Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Rio de Janeiro, junho de 2003, p. 33.

FALCÃO, D. Q.; MENEZES, F. S. **Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero *Hyptis*.** Revista Brasileira de Farmácia, v. 84, n. 3, 2003, p. 69-74.

FARQUHAR-SMITH, W. P. **Anatomy, physiology and pharmacology of pain.** Pain. Anaesthesia and Intensive Care Medicine, v. 9, n 1, 2007, p. 3-7.

FERRONATTO, R.; MARCHESAN, E. D.; PEZENTI, E.; BEDNARSKI, F.; ONOFRE, S. B. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae).** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 17, n. 2, 2007, p. 224-230.

FIERRO, I. M.; SERHAN, C.N. **Mechanisms in anti-inflammation and resolution: the role of lipoxins and aspirin-triggered lipoxins.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Review, v. 34, n. 5, 2001, p. 555-566.

GILLIJ, Y.G.; GLEISER, R.M.; ZYGADLO, J.A. **Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina.** Bioresource Technology 99 (2008) 2507–2515.

GOMES, A. C.; GOMES FILHO, J. E.; OLIVEIRA, S. H. P. de. **MTA-induced neutrophil recruitment: a mechanism dependent on IL-1 β , MIP-2, and LTB $_4$.** Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics, v. 106, n. 3, 2008, p. 450-456.

GUPTA, M.; MAZUMDAR, U. K.; SIVAKUMAR, T.; VAMSI, M. L. M.; KARKI, S. S.; SAMBATHKUMAR, R.; MANIKANDAN, L. **Evaluation of Anti-inflammatory Activity of Chloroform Extract of *Bryonia laciniosa* in Experimental Animal Models.** Biological & Pharmaceutical Bulletin, v. 26, n. 9, 2003, p. 1342-1344.

GUZZO, L. S.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A. S.; SILVA, A. C. A.; LOMBARDI, J. A.; GUIMARÃES, H. N.; GRABE-GUIMARÃES, A. **Antinociceptive and anti-inflammatory activities of ethanolic extracts of *Lychnophora* species.** Journal of Ethnopharmacology, v. 116, 2008, p.120–124.

HAJHASHEMI, V.; GHANNADI, A.; SHARIF, B. **Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill.** Journal of Ethnopharmacology, v. 89, 2003, p. 67–71.

HASHIMOTO, G. **Illustrated Cyclopedia of Brazilian Medicinal Plants.** [s.f.]: Aboc-sha, 1996, p. 601.

HERAS, B.; RODRÍGUEZ, B.; BOSCA, L.; VILLAR, A. M. **Terpenoids: Sources, Structure Elucidation and Therapeutic Potential in Inflammation.** Current Topics in Medicinal Chemistry, v. 3, 2003, p. 171-185.

HIKIJ, H.; TAKATO, T.; SHIMIZU, T.; ISHII, S. **The roles of prostanoids, leukotrienes, and platelet-activating factor in bone metabolism and disease.** Progress in Lipid Research, v. 47, 2008, p. 107–126.

HUNSKAAR, S.; FASMER, OB; HOLE K. **Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics.** Journal Neurosci Meth, v. 14, 1985, p. 69-76.

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

INOUE, I.; YANAI, K.; WATANABE, T; WATANABE, T. **Analysis of histamine H₁ receptor deficient mice: role in locomotor activity and anaphylaxis.** Taniguchi Symposium on Brain Science, v. 19, 1996, 139–149.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant Systematics. A phylogenetic approach.** Inglaterra, Sinauer Associates Inc., 1999. p. 383.

KOBAYASHI, K.; UMISHIO, K.; OTA, M.; YOSHIDA, Y.; SATAKE, M.; SEKITA, S. **Serine protease inhibitors and skin preparations containing the inhibitors for treatment of rough skin.** SHISEIDO CO. LTD. Japão. JP 2000-200052821 20000229,2001 a.

KOBAYASHI, K.; UMISHIO, K.; OTA, M.; INOMATA, S.; SATAKE, G.; SEKITA, S. **Antiaging cosmetics comprising gelatinase inhibitors.** SHISEIDO CO. LTD. Japão. JP 99-358344 19991217, 2001 b.

KOSTER, R., ANDERSON, M., DEBEER, E.J. M. **Acetic acid for analgesic screening.** Fed. Proc., 1959, v. 18. p. 412-421.

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

LARSEN, G.L.; HOLT, P.G.. **The concept of airway inflammation.** American Journal. Respiratory and Critical Care Medicine, v.162, 2000, p. S2-S6.

LEE, Y.; LEE, C-H.; HO, U. **Painful channels in sensory neurons.** Molecular and Cells. v. 20, n. 3, 2005, p. 315-324.

LEEB-LUNDBERG, L. M.; MARCEAU, F.; MULLER-ESTERL, W.; PETTIBONE D. J.; ZURAW, B. L. **Classification of the kinin receptor family: from molecular mechanisms to pathophysiological consequences.** International union of pharmacology. XLV Pharmacological reviews, v. 57, 2005, p. 27-77.

LEFRANC, F., YEATON, P.; BROTCHE, J. & KISS R. **Cimetidine, an unexpected anti-tumor agent, and its potential for the treatment of glioblastoma.** International Journal Of Oncology, v. 28, 2006, p. 1021-1030.

LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. P.; SOUZA, E. L. **Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de Cândida.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, 2006, p. 197- 201.

LOUREIRO-SILVA, M. R.; MOLINA, H.M.; BORGES, D. R. **Substâncias vasoativas e a modulação do sistema microvascular hepático.** Revista da Associação Médica Brasileira, v. 45, n. 3, 1999, p. 206-16.

LUNDBERG, J. O.; WEITZBERG, E.; GLADWIN, M. T. **The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics.** Nature Reviews, v. 7, 2008, p. 156-157.

MA, W.; QUIRION, R. **Does COX2-dependent PGE₂ play a role in neuropathic pain?** Neuroscience Letters, v. 437, 2008, p. 165–169.

MACDONALD, A. D. et al. **Analgesic action of pethidine derivatives and related compounds.** British Journal of Pharmacology, 1946. p. 4-14.

MAIA, J. G. S., ZOGHBI, M. G. B. & ANDRADE, E. H. A., SILVA, M. H. L. da. **Essential oil from Conochea scoparioides (Cham. & Schltdl) Benth.** Flavour and Fragrance Journal, v. 15, 2000, p. 413-414.

MAIA, J. G. S., ZOGHBI, M. G. B. & ANDRADE, E. H. A. **Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais.** Série Adolpho Dulcke. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, 2001, p. 66-67.

MAINTZ, L.; NOVAK N. **Histamine and histamine intolerance.** American Journal of Clinical Nutrition, v.85, 2007. p. 1185-1196.

MALONE, M.H.; ROBICHAUD, R. C. **A Hippocratic screen for pure or crude drug materials.** Lloydia, v. 25, 1962, p. 320-332.

MELO, J. O.; TRUITI, M. C. T.; MUSCARÁ, M. N.; BOLONHEIS, S. M.; DANTAS, J. A.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; CUMAN, R. K. N.; BERSANI-AMADO, C. A. **Anti-inflammatory activity of crude extract and fractions of *Nectandra falcifolia* Leaves.** Biological & Pharmaceutical Bulletin, v. 29, n.11, 2006, p. 2241-2245.

MENEZES, F. S. **Base química de tendências filogenéticas em Lamiiflorae.** Tese de Mestrado, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1994, p. 94.

MONTEIRO, M. V. B.; LEITE, A. K. R. de M.; BERTINI, L. M.; MORAIS, S. M. de, PINHEIRO, D. C. N. **Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. Leaves.** Journal of Ethnopharmacology, v.111, 2007, p. 378–382.

MONTUSHI, P.; SALA, A., DAHLÉN, S-E.; FOLCO, G. **Pharmacological modulation of the leukotriene pathway in allergic disease.** Drug discover today, 2007. p. 404-412.

MORAIS, A. A. de; MOURÃO, J. C., GOTTLIEB, O. R.; SILVA, M. L. da; MARX, M.C.; MAGALHÃES, M. T. **Óleos essenciais da Amazônia contendo timol**. Acta Amazônica, v. 62, 1972, p. 45-46.

MORAIS, S. L.; CATUNDA JÚNIOR, F. E. A.; SILVA, A. R. A. DA; NETO, J. S. RONDINA, D.; CARDOSO, J. H. L. **Antioxidant activity of essential oils from Northeastern Brazilian *Croton* species**. Química Nova, v. 29, n. 5, 2006, p. 907-910.

MORAIS, S. M.; DANTAS, J. D. P.; SILVA, A. R. A.; MAGALHÃES, E. F. **Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 15, 2005, p. 169-177.

NOGUEIRA, F. L. P. **Estudo biotecnológico e farmacológico de *Polygala paniculata* L.** Dissertação de mestrado - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2004, p. 86.

OLIVEIRA, C. M. A. de; SILVA, M. do R.; KATO, L.; SILVA, C. C. da; FERREIRA, H. D.; SOUZA, L. K. H. **Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of *Hyptis ovalifolia* Benth. (Lamiaceae)**. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 15, n. 5, 2004, p. 756-759.

OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, I. O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; SILVA-FILHO, R. N. **Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica**. Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 16, n. 1, 2006, p. 77- 82.

ONETTA, R. C. **Bases neurofisiológicas da acupuntura no tratamento da dor**. Monografia do Curso de Fisioterapia - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2005, p. 63.

ORHAN, I.; KÜPELI, E.; ASLAN, M.; KARTAL, M.; YESILADA, E. **Bioassay-guided evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of pistachio, *Pistacia vera* L.** Journal of Ethnopharmacology, v. 105, 2006, p. 235-240.

OTUKI, M. F.; VIEIRA-LIMAB, F.; MALHEIROSB, A.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. **Topical antiinflammatory effects of the ether extract from *Protium kleinii* and a-amyrin pentacyclic triterpene**. European Journal of Pharmacology, v. 507, 2005, p. 253– 259.

PARADA, C.A.; TAMBELI, C.H.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H. **The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in formaline-induced nociception.** *Neuroscience*, v.102, n. 4, 2001, p. 937-944.

PASSOS G. F.; FERNANDES E. S.; CUNHA F. M.; FERREIRA J.; PIANOWSKI L. F.; CAMPOSA, M. M.; CALIXTO J. B. **Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 110, 2007, p. 330- 332.

PATEL, T.; ISHIIJI, Y.; YOSIPOVITCH, G. **Menthol: A refreshing look at this ancient compound.** *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 57, n°5, 2007, p. 873-878.

PAUL, W. F. **Fundamental Immunology.** New York: Lippencott-Raven Publishers, 4. ed. 1998.

PAULINO, N.; ABREU, S. R. L.; UTO, Y.; KOYAMA, D.; NAGASAWA, H.; HORI, H.; DIRSCH, V. M.; VOLLMAR, A. M.; SCREMIN, A.; BRETZ, W. A. **Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian própolis.** *European Journal of Pharmacology*, v. 587, 2008, p. 296–301.

PEANA, A. T.; D'AQUILA, P. S.; PANIN, F.; SERRA, G.; PIPPIA1, P.; MORETTI, L. **Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils.** *Phytomedicine*, v. 9, 2002, p. 721–726.

PIETROVSKI, E. F. **Avaliação da atividade antinociceptiva do extrato etanólico e de princípios ativos das flores de *Combretum Leprosum* Mart.** Dissertação de Mestrado em Farmacologia - Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004, p. 20, 47.

PORTE, A.; GODOY, R. L. de O. **Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial.** B. CEPPA, Curitiba, v. 19, n. 2, 2001, p. 193-210.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plants of Pantanal.** Brasília: Embrapa-SPI, 1997, p. 320.

RABER, J. **Histamine receptor-mediated signaling during development and brain function in adulthood.** *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 64, 2007, p. 735-741.

RAMAGLIA, V.; DAHA, M. R.; BAAS, F. **The complement system in the peripheral nerve: Friend or foe?** *Molecular Immunology*, v. 45, 2008, p. 3865–3877.

REBELO, M. M. **Avaliação da capacidade antioxidante de *Conochea scoparioides* (Cham. & Schltdl.) Benth. e *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth. através do método do DPPH e de suas toxicidades frente à *Artemia salina*.** Tese de Mestrado do programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFPA, 2006, p.73.

RIBEIRO, R. A.; VALE, M. L.; THOMAZZI, S. M.; PASCHOALATO, A. B. P.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. **Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice.** *European Journal of Pharmacology*, v. 387, 2000, p. 111–118.

ROCHA, A. P. C.; KRAYCHETE, D. C.; LEMONICA, L.; CARVALHO, L. R.; BARROS, G. A. M. ;GARCIA, J. B. S.; SAKATA, R. K. **Dor: Aspectos Atuais da Sensibilização Periférica e Central.** *Revista Brasileira de Anestesiologia*, v. 57, n. 1, 2007, p. 94-105.

ROOME, T.; DAR, A.; NAQVI, S.; ALI, S.; CHOUDHARY, M. I. ***Aegiceras corniculatum* extract suppresses initial and late phases of inflammation in rat paw and attenuates the production of eicosanoids in rat neutrophils and human platelets.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 30, 2008, p. 6-7.

SANTOS, F. A.; SILVA, R. M.; CAMPOS, A. R.; ARAÚJO, R. P. L. J.; R. C. P.; RAO, V. S. **N. 1,8-cineole (eucalyptol), a monoterpene oxide attenuates the colonic damage in rats on acute TNBS-colitis.** *Food and Chemical Toxicology*, v. 42, n. 4, 2004, p. 579-584.

SANTOS, T. C.; MARQUES, M. S.; MENEZES, I. A. C.; DIAS, K. S.; SILVA, A. B. L.; MELLO, I. C. M.; CARVALHO, A. C. S.; CAVALCANTI, S. C. H.; ANTONIOLLI, A. R.; MARÇAL, R. M. **Antinociceptive effect and acute toxicity of the *Hyptis suaveolens* leaves aqueous extract on mice.** *Fitoterapia*, v. 78, n. 5, 2007, p. 333-336.

SAYERS, R. D. **Aortic aneurysm, inflammatory pathway and nitric.** *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, v. 84, 2002, p. 239-246.

SCHOLICH, K. & GEISSLINGER. G. **Is mPEGS-1 a promising target for pain therapy?.** *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 27, n.8, 2006, p. 399-401.

SCHMIDTKO, A.; LUO, C.; GAO, W.; GEISSLINGER, G.; KUNER, R.; TEGEDER, I. **Genetic deletion of synapsin II reduces neuropathic pain due to reduced glutamate but increased GABA in the spinal cord dorsal horn.** *Pain*, v. 139, 2008, p. 632–643.

SCRAMIN, S.; SAITO, M. L.; POTT A.; MARQUES, M. O. M. **Volatile constituents of *Hyptis crenata* Pohl (Labiatae) native in Brazilian pantanal.** *Journal of Essential Oil Research.*, v. 12, n. 1, 2000, p. 99-101.

SILVA, A. B. L.; DIAS, K. S.; MARQUES, M. S.; MENEZES, I. A. C.; SANTOS, T. C.; MELLO, I. C. M.; LISBOA, A. C. C. D.; CAVALCANTI, S. C. H.; MARÇAL, R. M.; ANTONIOLLI, A. R. **Avaliação do efeito antinociceptivo e da toxicidade aguda do extrato aquoso da *Hyptis fruticosa* Salmz. ex Benth.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.16, n. 4, 2006, p. 475-479.

RAUBER, C.; MELLO, F. B. de; MELLO, J. R. B. de. **Pre-clinic toxicological evaluation of a phytotherapeutic containing *Aristolochia cymbifera*, *Plantago major*, *Luehea grandiflora*, *Myrocarpus frondosus*, *Piptadenia colubrina* (Cassaú Composto®) in Wistar rats.** *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 34, n.1, 2006, p. 15-21.

SILVA, J.; ABEBE, W.; SOUSA, S. M.; DUARTE, V.G.; MACHADO, M. I. L.; MATOS, F. J. A. **Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*.** *Journal of Ethnopharmacology*, v 89, 2003, p. 277-283.

SMIDERLE, F. R.; OLSEN, L. M.; CARBONERO, E. R.; BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; MARCON, R.; SANTOS, A. R. S.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. **Anti-inflammatory and analgesic properties in a rodent model of a (1→3),(1→6)-linked β-glucan isolated from *Pleurotus pulmonarius*.** *European Journal of Pharmacology*, v. 30, 2008, p. 1-6.

SOUSA, D. P.; JÚNIOR, E. V.; OLIVEIRA, F. S.; DE ALMEIDA, R. N.; NUNES, X. P., BARBOSA-FILHO, J. M. **Antinociceptive Activity of Structural Analogues of Rotundifolone: Structure-Activity Relationship.** *Journal of biosciences*, v. 62, 2007, p. 39-42.

SOUSA, D. P. de; NÓBREGA, F. F. F.; CLAUDINO, F. S.; ALMEIDA, R. N. de; LEITE, J. R.; MATTEI, R. **Pharmacological effects of the monoterpene , α,β--epoxy-carvone in mice.** *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 17, n. 2, 2007, p.170-175.

SOUSA, O. V.; SOARES JÚNIOR, D. T.; DEL-VECHIO, G.; MATTOSINHOS, R. G.; GATTASS, C. R.; KAPLAN, M. A. C. **Atividades antinociceptiva e antiinflamatória do óleo essencial de cascas de *Duguetia lanceolata* St. Hil., Annonaceae.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 14, n. 1, 2004, p. 11-14.

SOUSA, P. J. C. S., FONTES JR., E. A., ROCHA, J. C., SOUSA, R. C., CARVALHO, R. A., MAIA, J. G. **Antiedematogenic and antinociceptive effectes of essential oil from *Piper aduncum* L.** XII Congresso Ítalo-Latino Americano de Etnomedicina “Nuno Álvares Pereira”. RJ, 2003.

SOUZA, G.E.; FERREIRA, S.H. **Blockade by antimacrophage serum of the migration of PMN neutrophils into the inflamed peritoneal cavity.** Agents Actions, v. 17, 1985, p. 97–103.

STAROWICZ, K.; NIGAM, S.; DI MARZO, V. **Biochemistry and pharmacology of endovanilloids.** Pharmacology & Therapeutics, v. 114, 2007, p. 13–33.

TAHIRO, M.; MOCHIZUKI, H.; SAKURADA, Y.; IWABUCHI, K.; KATO, M.; ITOH, M.; YANAI, K. **Imaging of histamine H₁ receptors in human brain and impaired cognitive performance induced by second generation antihistamines.** Cyric Annual report, 2001, p. 155-159.

THURMOND, R. L.; GELFAND, E. W.; DUNFORD, P. J. **The role of histamine H₁ and H₄ receptors in allergic inflammation: the search for new antihistamines.** Nature Reviews, v. 7, 2008, p. 41-53.

TRACEY, D.; KLARESKOG, L.; SASSO, E. H.; SALFELD, J. G.; TAK, P. P. **Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: A comprehensive review.** Pharmacology & Therapeutics, v. 117, 2008, p. 244–279.

TUBARO, A.; DRI, P.; DELBELLO, G.; ZILLI, C.; DELLA LOGGIA, R. **The croton oil ear test revisited.** Agents Actions, v. 17, n. 3, 1985, p. 347-349.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. **Óleo essencial de eucalipto.** Documentos Florestia, n. 17, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003, p. 1-26.

WANG, M-T; HONN, K. V.; NIE, D. **Cyclooxygenases, prostanoids, and tumor progression.** Cancer Metastasis Rev., V.v. 26, 2007, p. 525–534.

WANG, W.; WU, N.; ZU, Y.G.; FU, Y.J. **Antioxidative activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil compared to its main components.** Food Chemistry, v. 108, 2008, p. 1019-1022.

WINTER, C. A.; RISLEY EA, E. A.; NUSS, G. W. **Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs.** Progress Society Biological Medicine, v. 111, 1962, p. 544-547.

WOUTERS, M. M.; FARRUGIA, G.; SCHEMANN, M. **5-HT receptors on interstitial cells of Cajal, smooth muscle and enteric nerves.** Neurogastroenterol Motil, v. 19 (Supp. 2), 2007, p. 5-12.

YACUBIAN, E. M. T. **Medicamentos Genéricos no Tratamento das Epilepsias. Uma Reflexão.** Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology. v. 13, n. 3, 2007, p. 127-130.

YEDGAR, S.; KRIMSKY, M.; COHEN, Y.; FLOWER, R. J. **Treatment of inflammatory diseases by selective eicosanoid inhibition: a double-edged sword?** TRENDS in Pharmacological Sciences, v. 28, n. 9, 2007, p. 459-464.

ZEILHOFER, H. U., Prostanoids in nociception and pain. **Biochemical of pharmacology**, v. 73, 2007. p. 165-174.

ZHANG, B.; LI, J. B.; ZHANG, D. M.; DING, Y.; DU, G-H. **Analgesic and Anti-inflammatory Activities of a Fraction Rich in Gaultherin Isolated from *Gaultheria yunnanensis* (Franch.) Rehder.** Biological & Pharmaceutical Bulletin. v. 30, n 3, 2007, p. 465-469.

ZHOU, H. Y.; SHIN, E.M.; GUO, L.Y.; ZOU, L.B.; XU, G.H.; LEE, S.H.; ZE, K.R.; KIM, E.K.; KANG; S.S. & KIM, Y.S. **Anti-inflammatory activity of 21 (α , β)-methykmelianodiol, novel compounds from *Poncirus trifoliata* Rafinesque.** European Journal of Pharmacology, v. 572, 2007, p. 239-248.

ZOCCALI, C. **The endothelium as a target in renal diseases.** JN Ephrol, v. 20 (suppl 12), 2007, p. S39-S44.

ZOGHBI, M. G.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, M. H.; MAIA, J. G.; LUZ, A. I. R.; SILVA; J. D. **Chemical variation in the essential oil of *Hyptis crenata* (Pohl) ex Benth.** Flavour and Fragrance Journal, v. 17, 2002, p. 5-8.

LISTA DE TABELAS

Tabela 2. Efeito do OEHc sobre o estímulo nociceptivo induzido por ácido acético 0,6% em camundongos.

Grupo	Dose (mg/kg)	Nº de contorções	% de inibição
Controle	-	67,00±4,86	-
OEHc	250	51,89±4,96	22,56***
OEHc	350	30,60±2,44	60,76***
OEHc	500	16,40±1,64	75,53***
Indometacina	5	16,57±2,70	75,26***

Os valores representam média \pm E.P.M. (erro padrão da média) do número de contorções observadas durante vinte minutos após dez minutos da injeção de ácido acético 0,6%.*** $P < 0,001$; ANOVA; Teste Student Newman-Keuls.

Tabela 3. Efeito do OEHc sobre o estímulo nociceptivo induzido na placa quente em camundongos.

Grupo	Dose (mg/kg)	Tempo (min)				
		0	30	60	90	120
Controle	---	7,60±0,80	7,60±0,94	9,30±0,94	7,50±0,48	7,80±0,63
OEHC	364,22	5,67±0,85	7,55±0,80	8,11±1,01	9,78±1,43	8,67±0,96
Morfina	10	9,10±0,59	34,03±3,40***	24,93±3,22***	19,21±3,36**	15,51±3,42*

Os valores representam média ± E.P.M. (erro padrão da média) do tempo expresso em segundos nos períodos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos em que os animais foram submetidos ao estímulo térmico. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$; ANOVA; teste "t" de Student.

Tabela 4. Efeito do OEHC sobre o teste da formalina em camundongos.

Grupo	Dose mg/kg	Nº de Lambidas	% de inibição (1ª fase)	Nº de Lambidas	% de inibição (2ª fase)
Controle	-	67,20±2,65	-	163,50±15,02	-
OEHC	364,22	49,44±2,22	26,49**	92,56±10,96	43,39**
Morfina	4	12,20±3,96	81,85***	4,40±2,87	94,25***
Naloxona	1	61,70±3,65	-	154,33±17,98	-
OEHC x Naloxona	364,22 x 1	44,63±5,33	27,66	168,75±28,30	-
Morfina x Naloxona	4 x 1	42,46±6,6	-	103,67±20,43	-

OEHc x Morfina 364,22 x 4 13,90±2,96 - - -

Os valores representam média ± E.P.M. (erro padrão da média) do tempo de latência observado nos cinco primeiros minutos e nos quinze últimos minutos após a injeção intraplantar de formalina. ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$; ANOVA; Teste Student Newman-Keuls.

Tabela 5. Efeito do OEHc sobre a dermatite induzida pelo óleo de croton em camundongos.

Grupo	Dose (mg/kg)	Peso das orelhas (mg)	% de inibição
Controle	-	6,71±0,90	-
OEHc	364,22	3,74±0,61	44,26***
Dexametasona	10	0,48±0,14	92,85***

Os valores representam média ± E.P.M. (erro padrão da média) da diferença de peso entre as orelhas esquerda e direita. *** $P < 0,001$; ANOVA; Teste Student Newman-Keuls.

Tabela 6. Efeito do OEHc sobre o edema induzido por dextrana.

Grupo	Dose	Tempo (min)				
		0	30	60	90	120
Controle	-	0	2,45±0,21	2,95±0,32	2,97±0,24	2,20±0,31
OEHc	364,22	0	0,93±0,35**	0,72±0,33***	0,70±0,38***	0,56±0,35**
Ciproeptadina	5	0	0,54±0,11***	0,37±0,04***	0,19±0,05***	0,12±0,05***

Os valores representam média ± E.P.M. (erro padrão da média) da diferença do volume do edema nas patas dos ratos. ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$; ANOVA; teste "t" de Student.

Tabela 7. Efeito do OEHc sobre o edema induzido por carragenina.

Grupo	Dose	Tempo (h)					
		0	1	2	3	4	5
indometacina		0	1	2	3	4	5
Controle	-	0	1,48±0,36	3,30±0,35	4,57±0,47	4,10±0,44	3,51±0,33
OEHC	364,22	0	2,08±0,23	2,86±0,30	3,39±0,35	3,40±0,38	2,87±0,39
Indometacina	10	0	0,89±0,23*	1,08±0,37**	1,71±0,31***	1,48±0,27***	1,27±0,28***

Os valores representam média ± E.P.M. (erro padrão da média) da diferença do volume do edema nas patas dos ratos. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$; ANOVA; teste "t" de Student.

Tabela 8. Efeito do OEHC sobre na migração de leucócitos induzidas por carragenina.

Grupo	Dose (mg/kg)	Número de neutrófilos x 10^6	% de inibição
Controle	-	7,97±1,25	-
OEHC	364,22	4,18±0,74	47,55**
Dexametasona	1	2,93± 0,49	63,24***

Os valores representam média ± E.P.M. (erro padrão da média) da concentração de leucócitos no fluido peritoneal dos ratos. ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$; ANOVA; Teste Student Newman-Keuls.

Tabela 9. Efeito do OEHC sobre na migração de neutrófilos induzidas por carragenina.

Grupo	Dose (mg/kg)	Número de neutrófilos x 10 ⁶	% de inibição
Controle	-	6,89±0,61	-
OEHc	364,22	2,31±0,46	66,47***
Dexametasona	1	0,62± 0,34	91***

Os valores representam média ± E.P.M. (erro padrão da média) da concentração de neutrófilos no fluido peritoneal dos ratos.*** $P < 0,001$; ANOVA; Teste Student Newman-Keuls.