



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I - BODOCONGÓ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA

INGRID LAIZ DE OLIVEIRA CABRAL

AVALIAÇÃO TOXICOFARMACOLÓGICA DA ESPÉCIE *Apodanthera congestiflora*
Cong (Cucurbitaceae)

CAMPINA GRANDE

2017

INGRID LAIZ DE OLIVEIRA CABRAL

**AVALIAÇÃO TOXICOFARMACOLÓGICA DA ESPÉCIE *Apodanthera congestiflora*
Cong (Cucurbitaceae)**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos.

**CAMPINA GRANDE
2017**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

C117a Cabral, Ingrid Laiz de Oliveira.
Avaliação toxicofarmacológica da espécie *Apodanthera congesiflora* Cong (Cucurbitaceae) [manuscrito] / Ingrid Laiz de Oliveira Cabral. - 2017.
30 p. : il. color.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.
"Orientação: Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos, Departamento de Farmácia".

1. Atividade anti-inflamatória. 2. Antinocicepção. 3. Toxicologia. 4. Plantas medicinais. 5. Cabeça de negro. I. Título. 21. ed. CDD 615.321

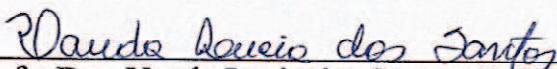
INGRID LAIZ DE OLIVEIRA CABRAL

AVALIAÇÃO TOXICOFARMACOLÓGICA DA ESPÉCIE *Apodanthera congestiflora*
Cong (Cucurbitaceae)

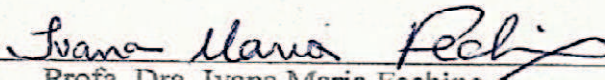
Trabalho de Conclusão de Curso de graduação
em Farmácia da Universidade Estadual da
Paraíba, como requisito à obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Aprovado(a) em: 24/04/2017.


BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Dra. Ivana Maria Fechine
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Dra. Camila de Albuquerque Montenegro
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

À minha família, por toda confiança e crença depositada em mim.

Ao meu companheiro na vida, no amor e nos estudos,
Hilton Albuquerque.

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora, por terem sido meu maior alicerce, minha força e meu amparo.

Aos meus pais, Admilde e Sérgio, por todo incentivo, todo apoio, investimento, amor, educação, que me ajudam a ser o que sou.

Às minhas irmãs, Ionara e Ivna, por estarem sempre presentes e por toda força.

Ao meu noivo, amigo, companheiro, Hilton, que além de toda paciência ao longo dos 5 anos de curso, me deu muita força e incentivo, foi minha maior ajuda nessa jornada.

À minha avó, Anunciada, que sempre se preocupou com meu caminho e me deu força para trilha-lo.

Aos meus familiares por toda confiança que em mim depositaram e, por toda presteza.

À minha orientadora, professora Vanda, por ter me dado à oportunidade de participar do seu projeto, por ter me dado confiança e por ter me instruído.

À minha banca, prof. Ivana e prof. Camila, por terem repassado seus conhecimentos ao longo desse trajeto e por terem aceitado realizar a avaliação do meu trabalho.

Aos companheiros do Laboratório de Ensaios Farmacológicos, que sempre foram prestativos e não mediram esforços para ajudar uns aos outros.

Aos amigos que o curso me deu, pela ajuda, pela força, pela amizade e pelos momentos de diversão.

Aos funcionários da UEPB, pela ajuda dada nos momentos que precisei.

A todos os professores do Curso, que contribuíram ao longo dos anos pelo meu aprendizado, tanto das disciplinas quanto da vida.

À UEPB, que me deu a grande oportunidade de concluir o curso de graduação e por todas as outras oportunidades que tive ao longo desses 5 anos.

A todos que se fizeram presentes, direta ou indiretamente na minha vida, por tudo.

“Tuas forças naturais, as que estão dentro de ti, serão
as que curarão suas doenças.”

Hipócrates

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Síntese de Eicosanoides.....	13
Figura 2 - Imagem ilustrativa da espécie <i>Apodanthera congestiflora</i> (cabeça de negro). Em I – Raiz e em II – Frutos imaturos.....	17
Figura 3 – Efeito da FaAce-Ac em camundongos pelo modelo de peritonite induzida por carragenina.....	22
Figura 4 – Efeito antinociceptivo da FaAce-Ac pelo método das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Efeito da administração oral do FaAcet-Ac (2000 mg/kg) no consumo de ração e de água, evolução ponderal e peso dos órgãos de camundongos, durante 14 dias.....	21
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
	2.1 Inflamação.....	12
	2.1.1 Drogas Anti-inflamatórias.....	13
	2.2 Nocicepção.....	14
	2.2.1 Atividade Antinociceptiva.....	15
	2.3 Família Cucurbitaceae.....	16
	2.3.1 <i>Apodanthera congestiflora</i>	17
3	METODOLOGIA.....	18
	3.1 Local de pesquisa.....	18
	3.2 Obtenção da fase acetato de etila (FaAce-Ac).....	18
	3.3 Animais.....	18
	3.4 Avaliação toxicológica não clínica - Avaliação comportamental (MALONE, 1977).....	18
	3.5 Investigação da atividade farmacológica.....	19
	3.5.1 Peritonite induzida por carragenina (FERRÁNDIZ; ALCARAZ, 1991).....	19
	3.5.2 Teste de contorções abdominais.....	19
	3.6 Análise estatística.....	19
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
	4.1 Toxicidade não clínica - Avaliação comportamental e determinação da DL ₅₀	20
	4.2 Avaliação da atividade anti-inflamatória.....	21
	4.2.1 Peritonite induzida por carragenina.....	21
	4.3 Avaliação da atividade antinociceptiva.....	23
	4.3.1 Teste de contorções abdominais.....	23
5	CONCLUSÃO.....	25
6	REFERÊNCIAS.....	26

1 AVALIAÇÃO TOXICOFARMACOLÓGICA DA ESPÉCIE *Apodanthera congestiflora* Cong (Cucurbitaceae)

2 *Ingrid Laiz de Oliveira Cabral

RESUMO

O processo inflamatório pode ser evocado por uma grande variedade de agentes nocivos, onde a ação de mediadores inflamatórios como bradicinina, prostaglandinas, endotelina e aminas simpatomiméticas, podem ocasionar a sensibilização de nociceptores, levando ao fenômeno da dor. Os anti-inflamatórios não estereoidais encontram-se entre os medicamentos mais prescritos em todo o mundo e têm em comum a capacidade de controlar a inflamação, promover analgesia e de combater a febre, porém, desencadeiam diversos efeitos indesejáveis. Existe, portanto, uma necessidade de pesquisar novos tratamentos que sejam mais eficazes e mais seguros, com menos efeitos colaterais. Assim, a utilização de produtos oriundos da flora podem apresentar vantagens econômicas, eficácia e menos efeitos indesejáveis em relação aos produtos disponíveis. Espécies da família Cucurbitaceae são responsáveis por importantes atividades biológicas, a exemplo da *Apodanthera congestiflora*, popularmente conhecida como cabeça de negro, que é uma planta medicinal, nativa da região semiárida. Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade, bem como a potencial atividade anti-inflamatória e antinociceptiva da fração acetato de etila da *A. congestiflora*. Foram utilizados camundongos albinos Swiss adultos de ambos os sexos, pesando entre 25 e 35g. Para o estudo de segurança do uso da espécie, foi utilizado o modelo de toxicidade aguda de dose fixa. O método utilizado para avaliar a atividade anti-inflamatória foi o de peritonite induzida por carragenina. Para o potencial antinociceptivo foi realizado o teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Os protocolos experimentais foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FACISA. Os dados foram analisados pela análise de variância (ANOVA), utilizando o programa Prisma 5.0. Na toxicidade aguda, a dose de 2000 mg/kg não foi capaz de provocar morte, nem alterações comportamentais ou nos padrões fisiológicos (consumo de água, ração, peso corporal) dos animais, como também alteração no peso dos órgãos, sendo portanto considerado seguro a realização dos demais estudos. No modelo de peritonite induzida por carragenina, obteve-se uma inibição de 44,0%, 38,9% e 73,8%, para as doses de 100, 150, 200 mg/kg, respectivamente, na migração leucocitária, quando comparada ao controle negativo. Já no teste de contorções abdominais o percentual de inibição encontrado foi de 35,76% e 36,08%, respectivamente, para as doses de 150 e 200 mg/kg, quando comparada ao controle negativo. Estes dados evidenciam que a substância estudada possui atividade anti-inflamatória e antinociceptiva significativas. Desta forma, a fase acetato de etila da *Apodanthera congestiflora* apresenta-se como uma promissora fonte para desenvolvimento de um novo medicamento fitoterápico.

Palavras-chave: Atividade anti-inflamatória, Antinocicepção, Cabeça de negro.

1 INTRODUÇÃO

Nos primórdios da farmacologia, antes do advento da química orgânica sintética, esta relacionava-se exclusivamente com a compreensão dos efeitos de substâncias naturais, principalmente extratos botânicos (RANG et al., 2012).

O uso de plantas medicinais fez parte da sociedade por muitos anos. Porém no século XX, o uso de medicamentos de origem sintética se tornou maior, especialmente em países desenvolvidos do Ocidente. Em contraste com isso, os países em desenvolvimento, continuam a utilizar plantas, como fonte de cura, visto que devido às condições econômicas, o acesso aos medicamentos sintéticos torna-se mais difícil (SOUZA-MOREIRA et al., 2010).

Estimativas globais sugerem que cerca de 3/4 da população mundial ainda não têm acesso às terapias sintéticas para as mais diversas patologias. Por isso, essa população depende do uso da medicina tradicional, em especial das plantas medicinais. Sendo assim, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estimula o desenvolvimento da fitoterapia objetivando o surgimento de programas de saúde à população de baixa renda (SILVA et al., 2010).

A OMS, desde 1978, incentiva investimentos públicos em plantas medicinais, e com isso a fitoterapia se tornou mais aceita entre os profissionais da saúde. Além disso, é estimado que, 65-80% da população mundial utiliza produtos a base de plantas medicinais na atenção primária à saúde, sendo esses utilizados para várias finalidades (SILVEIRA et al., 2008).

Pela vasta biodiversidade brasileira, as plantas medicinais são muito utilizadas. O que contribui para que seu uso seja um campo estratégico para o país, cujo maior potencial econômico da biodiversidade está na descoberta de novas drogas derivadas diretamente ou sintetizadas a partir de recursos biológicos (BRITO, 2010).

Acredita-se que a utilização de produtos oriundos da flora brasileira possa apresentar, além das vantagens econômicas, vantagens quanto à eficácia e efeitos indesejáveis em relação aos produtos disponíveis. Paradoxalmente, apesar do uso cada vez mais frequente, muitas vezes, baseado apenas em conhecimentos populares, faltando o suporte de evidências experimentais que comprovem o potencial terapêutico, mecanismo de ação, toxicidade e os possíveis efeitos colaterais (BATISTA et al., 2012).

Almeida et al. (2012) sustentam que a utilização de plantas medicinais para o alívio da dor e inflamação é uma prática comum na medicina popular, mas os princípios ativos na maioria dos casos são desconhecidos, deste modo, a busca pela avaliação dos efeitos farmacológicos dos extratos ainda pode ser usada como uma estratégia para pesquisa de novos medicamentos.

Avaliar as propriedades atribuídas a diversas espécies de plantas envolvem as áreas de etnobotânica, farmacologia e a fitoquímica, bem como, a operação de formulações para a produção de fitoterápicos, que aumentam a integração destas áreas na pesquisa de plantas medicinais. Esses estudos conduzem a um caminho promissor e eficaz para descobertas de novos medicamentos (DA SILVA et al., 2014; MACIEL et al., 2002).

A avaliação da toxicidade é realizada com o objetivo de determinar o potencial de novas substâncias e produtos causar danos à saúde humana, sendo os testes utilizados para classificar e apropriadamente rotular substâncias de acordo com o seu potencial de letalidade ou toxicidade como estabelecido pela legislação. A toxicocinética e a relação-dose resposta constituem outros parâmetros investigados (PRIETO et al., 2006; VALADARES, 2006).

A inflamação é o conjunto de fenômenos bioquímicos, morfológicos e fisiológicos, sucessivos, ativos e complexos, pelos quais se exterioriza a reação vascular e tissular dos tecidos vivos a uma agressão, ou seja, é uma reação de defesa e de reparação tecidual (ADER et al, 2006).

A dor é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a um dano tecidual real ou potencial (AZEVEDO et al., 2012). Normalmente acompanha a maioria das doenças que acometem o homem, alertando o organismo para a presença de estímulos danosos. Quando a dor é de curta duração e autolimitada é definida como dor aguda, porem quando persiste por mais de 3 meses, essa dor é classificada como dor crônica (BRITO, 2013).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade, bem como a potencial atividade anti-inflamatória e antinociceptiva da fração acetato de etila da *Apodanthera congestiflora*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Inflamação

O processo inflamatório é a resposta a um estímulo prejudicial. Ele pode ser evocado por uma grande variedade de agentes nocivos (BRUNTON et al., 2012), sejam físicos (cortes, contusões, queimaduras), químicos (agentes irritantes, corrosivos, dentre outros) e/ou biológicos (infecções em geral) (SILVA; MACEDO, 2011), sendo caracterizada pelos sinais de rubor, calor, edema, dor e prejuízo funcional. Tudo isso leva a uma cascata de eventos bioquímicos, que ativam enzimas capazes de liberar mediadores, extravasamento de líquido, migração de células, quebra e reparo de tecidos (KUMARI et al., 2014).

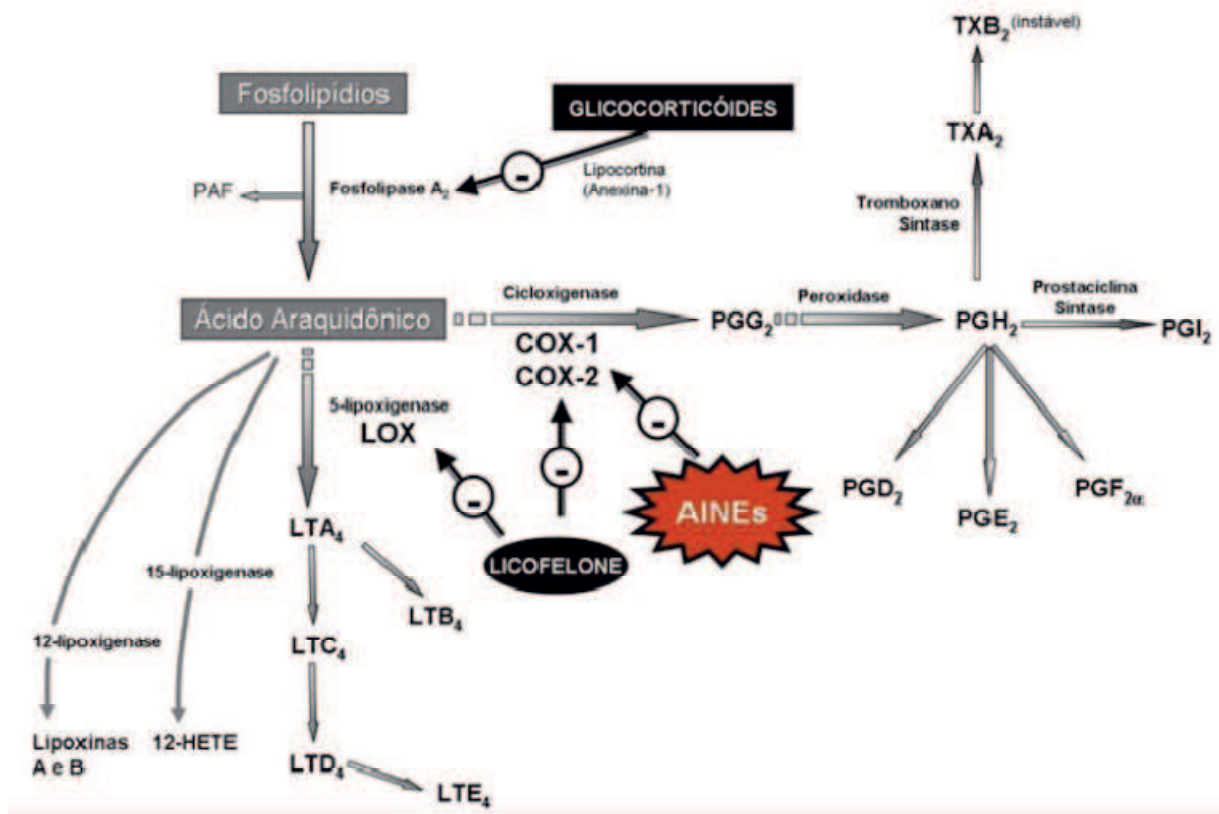
De modo geral, o processo inflamatório compreende três fases. A fase aguda, a qual é caracterizada pela presença de eventos vasculares, observando-se a vasodilatação local e o aumento da permeabilidade vascular; a fase tardia onde se observa a migração celular, com a infiltração de leucócitos e células fagocitárias e a fase proliferativa crônica, na qual ocorre degeneração tecidual e fibrose, podendo causar a dor através da ativação e sensibilização de nociceptores (CASTRO, 2011).

A inflamação apresenta-se muitas vezes ligada a nocicepção, na qual a ação de mediadores inflamatórios como bradicinina, endotelina e aminas simpatomiméticas, podem ocasionar a sensibilização de nociceptores, levando ao fenômeno da dor (VERRI JR et al., 2007).

A ciclo-oxigenase é encontrada em duas principais isoformas, denominadas ciclo-oxigenase-1 (COX-1) e ciclo-oxigenase-2 (COX-2). A COX-1 é expressa constitutivamente, ou seja, está presente nas células em condições fisiológicas, principalmente nos vasos sanguíneos, plaquetas, estômago e rins. A COX-2 pode ser induzida na presença de interleucina-1, interleucina-2 e fator de necrose tumoral α (TNF- α), ésteres do forbol, fatores de crescimento e endotoxinas e é expressa por células envolvidas no processo inflamatório (macrófagos, monócitos e sinoviócitos) (SILVA, 2010).

A lesão celular associada à inflamação atua sobre as membranas celulares, provocando a liberação de enzimas lisossômicas dos leucócitos; a seguir, ocorre liberação de ácido araquidônico a partir de compostos precursores e são sintetizados vários eicosanoides (Figura 1) (KATZUNG et al., 2014).

Figura 1 – Síntese dos Eicosanoides



FONTE: <https://corticoides.wordpress.com/2012/06/01/influencia-do-cortisol-na-coagulacao-sanguinea>

Os eicosanoides, como prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina e leucotrienos, produzem efeitos variados e numerosos nos sistemas biológicos. Atuam por ativação dos receptores específicos da superfície celular, que se ligam aos sistemas intracelulares de segundo-mensageiros para modular a atividade celular (BRUNTON et al., 2012). Os eicosanoides desempenham importante função na indução e na facilitação de patologias, principalmente as doenças inflamatórias, tendo por isso, a supressão de suas ações sido um dos principais alvos e objetivos terapêuticos para o desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios (CASTRO, 2011).

2.1.1 Drogas Anti-inflamatórias

Os anti-inflamatórios encontram-se entre os medicamentos mais prescritos em todo o mundo (BATLOUNI, 2010). Fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) ou esteroides (AIEs) são utilizados para tratar diferentes doenças inflamatórias (MEHTA et al., 2013).

Os anti-inflamatórios não esteroides são um grupo variado de fármacos que têm em comum a capacidade de controlar a inflamação, promover analgesia (reduzir a dor) e de combater a hipertermia (febre). Caracterizam-se por inibir a atividade de subtipos da ciclo-oxigenase (COX-1 e COX-2), impedindo assim a síntese de prostaglandinas pela via metabólica da cascata do ácido araquidônico (BRUNTON et al., 2012).

Os AINEs estão associados a alguns efeitos adversos como asma, rinite, reações cutâneas, anafilaxia, anafilaxia não alérgica, meningite asséptica, pneumonite de hipersensibilidade e lesões gástricas (VARALDA; MOTTA, 2009). Além disso, com exceção dos COXIBEs, são irritantes gástricos e também podem estar associados a úlceras e sangramentos gastrintestinais (GI), embora, como grupo, os fármacos mais recentes tenham tendência a causar menos irritação GI do que o ácido acetilsalicílico (KATZUNG et al, 2014).

Os anti-inflamatórios esteroides ou glicocorticoides também exercem poderosos efeitos anti-inflamatórios e, quando introduzidos pela primeira vez, foram considerados como a resposta final ao tratamento da artrite infamatória. Embora existam dados de que os corticosteroides em baixas doses apresentam propriedades modificadoras da doença, sua toxicidade torna-os menos preferidos que outros medicamentos, quando é possível utilizar outros fármacos (KATZUNG et al., 2014). No caso dos glicocorticoides, o seu uso prologando pode acarretar efeitos que mascarem processos infecciosos e comprometam as funções cardiovasculares, metabólicas, imunológicas e homeostáticas (BRUNTON, 2012).

Devido a esses inconvenientes, portanto, existe uma necessidade de pesquisar novos tratamentos que sejam mais eficazes e mais seguros, com menos efeitos colaterais (LEMOS et al., 2011).

2.2 Nociceção

Nociceção é o processo pelo qual estímulos térmicos, mecânicos ou químicos nocivos são detectados por uma subpopulação de fibras nervosas periféricas, chamadas nociceptores. Estes são extremamente heterogêneos, diferindo quanto aos tipos de neurotransmissores que contêm, os receptores e canais iônicos que expressam, na velocidade de condução, nas suas propriedades de resposta ao estímulo nocivo e sua capacidade de serem sensibilizados durante a inflamação, lesão e doença. Existem duas classes principais de nociceptores, a primeira inclui fibras C não-mielinizadas de pequeno diâmetro, onde a velocidade de transmissão do estímulo é lenta e a segunda engloba fibras mielinizadas (A δ) de diâmetro médio, cuja velocidade de condução é mais rápida. Essas fibras aferentes

mielinizadas diferem consideravelmente das fibras A β de grande diâmetro de condução rápida que responde à estimulação mecânica inócua (BAGGIO, 2010).

A dor é um componente presente na maior parte das patologias clínicas e seu tratamento é um imperativo clínico fundamental. É caracterizada por experiências sensoriais e emocionais, podendo ser crônica (quando perdura por um longo tempo) ou aguda (quando finda em um curto espaço de tempo). Por vezes, a percepção de dor é entendida como um mecanismo de proteção, no qual o corpo inibe comportamentos que levem a uma injúria maior (KLAUMANN et al., 2008; CORTES et al., 2013).

A dor geralmente é acompanhada por hiperalgesia, que é uma resposta exagerada a um estímulo nocivo e alodinia, que compreende a sensação de dor em resposta a um estímulo inócua. Um exemplo deste último é a sensação dolorosa durante o banho quente quando a pele foi queimada pelo sol. Hiperalgesia e alodinia resultam do aumento da sensibilidade nas fibras aferentes nociceptivas. As substâncias químicas liberadas no local da lesão ativam os nociceptores e provocam dor inflamatória (RAFF; LEVITZKY, 2012).

Quando o estímulo à dor é de forte intensidade o corpo libera, na corrente sanguínea, um neurotransmissor endógeno denominado β -endorfina, cujos efeitos compreendem a diminuição da sensação dolorosa, e a facilitação de sensações de relaxamento e bem-estar (BERTOLINI et al., 2011). Porém, nem sempre o estímulo é forte o suficiente para promover a liberação de β -endorfina ou mesmo a quantidade liberada é insuficiente para amenizar a dor, nestes casos faz-se o uso de medicamentos com ação analgésica (CASTRO et al., 2013). Os opioides constituem a base do tratamento da dor, mas o controle eficaz da dor pode envolver, dependendo da condição dolorosa, uma ou mais classes de fármacos, inclusive anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), anticonvulsivantes e antidepressivos (BRUNTON et al., 2012).

2.2.1 Atividade Antinociceptiva

Quando se trata de fármacos para o tratamento da dor, abre-se uma lacuna no que diz respeito ao regime medicamentoso que pode ser estabelecido, tendo em vista que ainda não dispomos de fármaco analgésico e/ou anti-inflamatório ideal, ou seja, que não promovam efeitos colaterais potenciais. Embora sejam altamente eficazes, os analgésicos de ação central geralmente não estão dissociados de efeitos adversos importantes. Adicionalmente, os analgésicos de ação periférica também apresentam efeitos indesejáveis, tais como lesões do trato gastrointestinal e renal (RANG et al., 2012).

As terapias encontradas atualmente para o tratamento da dor aguda e crônica baseiam-se em três principais classes de drogas: anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), fármacos opioides e um grupo de drogas com ações farmacológicas diversas, conhecidas como adjuvantes, compreendendo antidepressivos, anticonvulsivantes, anestésicos locais, agonistas dos receptores $\alpha 2$ -adrenérgicos e agonistas gabaérgicos, entre outros. Todas as terapias existentes hoje possuem ação limitada para alguns tipos de dor (CARLINI; MENDES, 2011).

Essas terapias são usualmente insuficientes por possuírem efeitos colaterais severos e efetividade limitada. Desta forma, há uma busca por novas moléculas que sejam eficazes e com menores efeitos adversos (BAGGIO, 2010). As plantas medicinais têm sido bastante utilizadas e destacadas no alívio da dor (ALMEIDA et al., 2012).

Há um crescente interesse mundial por produtos derivados da biodiversidade e, nesse aspecto, o Brasil é privilegiado, sendo detentor de grande diversidade biológica, com inúmeras espécies vegetais com potencial medicinal (DUTRA, 2009), a exemplo das espécies da família Cucurbitaceae objeto deste estudo.

2.3 Família Cucurbitaceae

A família Cucurbitaceae é numerosa e heterogênea e, assim como muitos dos vegetais, apresentam informações duvidosas acerca de seus gêneros e espécies (LEAL, 2013). SCHAEFER & RENNER (2011) informam aproximadamente 95 gêneros e um número estimado entre 950 e 980 espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo raras em regiões temperadas.

Para a América tropical são mencionados 53 gêneros nativos e aproximadamente 325 espécies (NEE, 2007; SCHAEFER; RENNER, 2011). No Brasil a família está representada por cerca de 29 gêneros, com um total de 155 espécies (GOMES-KLEIN et al., 2015).

Os componentes majoritários de espécies da família Cucurbitaceae são as cucurbitacinas e os triterpenos tetracíclicos (MACHADO et al., 2015). Estas são responsáveis por importantes atividades biológicas, as mais significativas são: atividade citotóxica, antitumoral, antiinflamatória, antifertilizante, fago-repelente, hepatoprotetora e curativa e antimicrobiana (MIRÓ, 1995). Nos últimos anos, as cucurbitacinas têm despertado interesse, principalmente em função das atividades citotóxica e antitumoral que apresentam. Elas são capazes de induzir alterações morfológicas e fisiológicas em células tumorais, atuando por diferentes mecanismos de ação (MACHADO et al., 2015).

2.3.1 *Apodanthera congestiflora*

A *Apodanthera congestiflora* Cogn (Cucurbitaceae) popularmente conhecida como cabeça-de-negro é uma planta medicinal, nativa da região semiárida, utilizada como depurativo do sangue e seu chá é usado também na clínica veterinária para tratar catarro (SILVA JÚNIOR; SOUZA, 2013).

Seu uso está, segundo levantamento realizado em comunidades rurais de Laginhas, Caicó-RN, relacionado com o tratamento para manchas na pele, “sangue grosso” e coceira; sendo a raiz a parte utilizada, em forma de banho, infusão, tintura ou pó (ROQUE et al., 2010).

Figura 2 - Imagem ilustrativa da espécie *Apodanthera congestiflora* (cabeça de negro). Em I – Raiz e em II – Frutos imaturos.



FONTE:
<http://www.bihrmann.com/caudiciforms/subs/apo-con-sub.asp>



FONTE:
<http://www.bihrmann.com/caudiciforms/subs/apo-con-sub.asp>

3 METODOLOGIA

3.1 Local de pesquisa

A fase acetato foi obtida no Instituto Nacional do Semiárido (INSA), localizado na cidade de Campina Grande – PB, no bairro Serrotão. Os estudos de toxicidade e investigação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória foram realizadas no Laboratório de Ensaios Farmacológicos, localizado na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

3.2 Obtenção da fase acetato de etila (FaAce-Ac)

As raízes da *Apodanthera congestiflora* Cong foram coletadas no município de Barra de Santana-PB, sendo recolhido um exemplar para confecção da exsicata, que está depositada no Herbário Manuel de Arruda Câmara (ACAM) na Universidade Estadual da Paraíba, sob o número 1000. As demais foram limpas e retiradas todas as impurezas. Em seguida, foram secas em estufa de circulação de ar a 40°C e trituradas em um moinho de facas; o pó resultante do processo foi submetido à extração eluotrópica com os solventes n-hexano, acetato de etila e etanol, utilizando extrator automatizado (Dionex™ ASETM 350 Accelerated Solvent Extractor system).

3.3 Animais

Foram utilizados, para realização dos experimentos, Camundongos Swiss albinos de ambos os sexos, da espécie *Mus musculus*, com cerca de 2-3 meses de idade e pesando entre 25-35g. Todos os animais foram oriundos do laboratório de ensaios Farmacológicos/UEPB e foram mantidos sob condições controladas de iluminação e temperatura, recebendo água e dieta (Labina®) *ad libitum*. Os protocolos experimentais foram submetidos a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FACISA, com número de aprovação do CIAEP/CONCEA: 01.001.2012, datado: 01 de abril de 2016.

3.4 Avaliação toxicológica não clínica - Avaliação comportamental (MALONE, 1977)

Para os testes de toxicidade, os animais foram submetidos a um jejum de 12 horas. Em seguida, foram divididos em 4 grupos, sendo 2 grupos de machos (n=6) e 2 grupos (n=6) de fêmeas. Em dois grupos (macho e fêmea) foi administrado veículo (solução salina) e nos outros dois grupos foi administrado extrato na dose de 2000 mg/kg, pela via oral (gavagem).

Parâmetros comportamentais, tais como a hiperatividade, irritabilidade, cianose, tónus muscular, força para agarrar, foram observados durante as 4 primeiras horas, nos intervalos de 30 minutos, 1, 2, 3 e 4 horas. Sendo relacionada com a atividade no sistema nervoso central a ocorrência de qualquer alteração comportamental em decorrência dos tratamentos.

Os animais foram observados diariamente durante 14 dias em relação ao comportamento, consumo de água, ração, peso corporal e morte.

3.5 Investigação da atividade farmacológica

3.5.1 Peritonite induzida por carragenina (FERRÁNDIZ & ALCARAZ, 1991).

Os animais foram divididos em grupos e então, tratados, por via oral, com veículo, indometacina (10 mg/kg) ou FaAce-Ac nas doses de 100, 150 e 200 mg/kg. Após 30 min, foi administrada a solução de carragenina a 1% (100 µL/10 g) na região intraperitoneal. Quatro horas após a indução da inflamação, os animais foram anestesiados com a combinação de quetamina e xilazina e eutanasiados, administrando 2 mL do tampão fosfato (PBS) na cavidade peritoneal seguida de suaves massagens e o lavado retirado após secção abdominal para a contagem global de leucócitos em contador de células hematológico automático.

3.5.2 Teste de contorções abdominais

Os camundongos adultos machos e fêmeas em jejum prévio de 12 horas foram tratados por via oral com 10 mL/kg do veículo (solução salina 0,9%) como o controle negativo, dipirona (500 mg/kg) como controle positivo, FaAce-Ac (150 e 200 mg/kg) como testes. Após 40 minutos, foi administrada a solução de ácido acético a 1% (100 µL/10 g) na região intraperitoneal. Posteriormente, os animais foram transferidos para funis de vidro transparentes e observados por 20 minutos para contabilizar o número e o tempo de início das contorções abdominais seguido do estiramento dos membros inferiores. O percentual de inibição foi calculado usando a fórmula: $\text{Inibição} = (V-T)/V \times 100\%$, onde V é o número de contorções do grupo veículo e T os testes ou controle positivo.

3.6 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Prism 5.0. Os dados foram analisados pela análise de variância (ANOVA), seguido, quando necessário, pelo teste de Dunnett ou teste “t” de Student. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi fixado em 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espécie *Apodanthera congestiflora* não possui registro de comprovação de nenhuma atividade farmacológica, apesar do seu uso como planta medicinal popular, o que torna este trabalho pioneiro.

Para estudar a atividade farmacológica da espécie, foi utilizada a fase acetato das extrações realizadas, por se tratar da fração de melhor resposta durante a triagem farmacológica, realizada no Laboratório de Ensaios Farmacológicos da UEPB, onde as fases hexânica, acetato e etanólica foram avaliadas em camundongos. De acordo com os resultados obtidos, a fase acetato foi selecionada para dar prosseguimento aos testes farmacológicos.

4.1 Toxicidade não clínica – Avaliação comportamental e determinação da DL₅₀

Os medicamentos oriundos de plantas são amplamente utilizados pela população mundial e possuem uma extensa história no emprego à prevenção e tratamento de doenças, desde antes de Cristo (OUEDRAOGO et al., 2012). Entretanto, tais produtos devem ser avaliados por meio de testes toxicológicos capazes de estabelecer intervalos de segurança no uso, ao estimar DL₅₀ e outros ensaios de toxicidade. Nesta avaliação podem surgir reações adversas, úteis para informar sobre os riscos ou inseguranças no uso do vegetal (TCHAMADEU et al., 2011).

Foi administrada, por via oral, a fase acetato de *Apodanthera congestiflora* (FaAce-Ac) na dose 2000 mg/kg. Esta não foi capaz de provocar alterações comportamentais ou alterações nos padrões fisiológicos de evacuação e micção, além de não ocasionar morte de animais no período de 14 dias de observação, podendo o valor da DL₅₀, para a administração oral, ser estimada em maior que 2000 mg/kg, o que faz com que possa ser enquadrada na Classe 5 de toxicidade, segundo a GHS (*Globally Harmonised System*), sendo considerada de baixa toxicidade (CUNHA et al., 2013).

Os sinais de toxicidade sistêmica são definidos também a partir da redução na massa corporal, redução no consumo de água e ração, alterações de comportamento, apatia e má condição da pelagem, como a presença de pelos arrepiados (RAJEH et al., 2012). Esses parâmetros não foram evidenciados nos animais experimentais. Também não foi observada nenhuma alteração macroscópica no coração, fígado, baço e rins (Tabela 1). Estes dados sugerem baixa toxicidade do extrato.

Tabela 1 - Efeito da administração oral do FaAcet-Ac (2000 mg/kg) no consumo de ração e de água, evolução ponderal e peso dos órgãos de camundongos, durante 14 dias.

Parâmetros	Tratamentos			
	Controle Negativo (machos)	Controle negativo (fêmeas)	Fase acetato (machos)	Fase acetato (fêmeas)
Consumo de água (ml)	8,036 ± 0,77	7,202 ± 0,77	10,18 ± 2,26	5,714 ± 0,97
Consumo de ração (g)	6,869 ± 0,69	6,238 ± 0,95	7,833 ± 2,03	6,369 ± 1,95
Evolução ponderal (g)				
Inicial	29,17 ± 0,98	24,33 ± 0,81	25,83 ± 1,16	25,20 ± 0,83
Final	38,17 ± 2,92	29,50 ± 1,51	37,33 ± 1,52	30,33 ± 1,63
Peso dos órgãos (g)				
Baço	0,4557 ± 0,16	0,4151 ± 0,07	0,5455 ± 0,06	0,5246 ± 0,20
Rins	1,250 ± 0,08	1,067 ± 0,12	1,305 ± 0,06	1,124 ± 0,18
Fígado	5,399 ± 1,22	5,171 ± 0,73	5,820 ± 0,22	5,250 ± 0,96
Coração	0,4025 ± 0,05	0,4148 ± 0,04	0,4749 ± 0,02	0,4479 ± 0,07

Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste “t” de Student comparado ao grupo veículo; n=6.

Tais resultados corroboram Attanayake et al. (2013), quando investigaram a toxicidade de *Cocchnia grandis*, planta da família Cucurbitaceae, onde não foi observada mortalidade significativa, nem alteração nos pesos dos animais e nos órgãos analisados. Al-Yahya et al. (2000) quando estudaram a espécie *Citrullus colocynthis* L. Schrad. (Cucurbitaceae), evidenciaram alta toxicidade da planta, porém esta não sendo letal nas doses testadas.

4.2 Avaliação da atividade anti-inflamatória

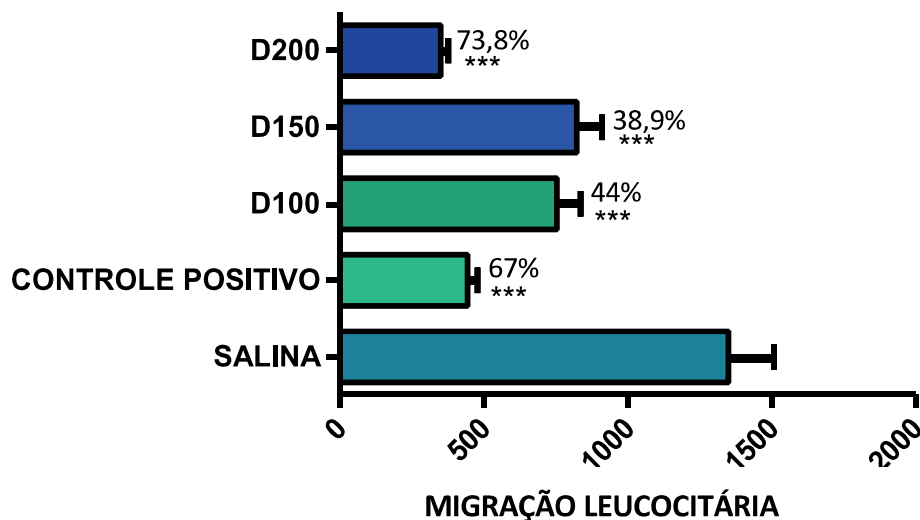
4.2.1 Peritonite induzida por carragenina

Para avaliação da atividade anti-inflamatória foi utilizado o teste de peritonite induzida pela introdução de carragenina na região do peritônio.

A carragenina é um agente agressor responsável por promover o aumento numérico das células de defesa. Seu mecanismo de ação consiste em induzir a migração leucocitária, podendo ser por sinergismo entre prostaglandinas, leucotrienos (LTB₄) e outros potentes agentes quimiotáticos, como complemento e interleucinas, promovendo vasodilatação, exsudação plasmática e acúmulo de leucócitos no local da lesão (BORGES, 2010).

Produziu-se uma resposta inflamatória na cavidade peritoneal dos animais, com um número significativo de células de defesa no exsudato peritoneal, como observado no grupo controle negativo (veículo). Na administração oral da FaAce-Ac nas doses de 100, 150 e 200 mg/kg, a inibição migratória dos leucócitos foi de 44, 38,9 e 73,8%, respectivamente. Enquanto o controle positivo foi de 67% (Figura 3).

Figura 3 – Efeito da FaAce-Ac em camundongos pelo modelo de peritonite induzida por carragenina.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo veículo; n=6; *** = $p < 0,001$.

Neste modelo experimental, realiza-se a contagem de leucócitos que migram para a cavidade peritoneal sob a ação de agentes quimiotáticos. Alguns autores relatam que o recrutamento de células durante a inflamação depende da liberação de mediadores locais, que provocam alterações vasculares e teciduais, assim como a migração de células de defesa (THOMAZZI *et al.*, 2010).

A quantificação dos leucócitos permite avaliar a influência de drogas neste parâmetro de resposta inflamatória, sendo particularmente sensíveis a anti-inflamatórios esteroidais (LAPA et al., 2003).

Segundo Bessa et al. (2013) e Saha et al. (2013), dentre os compostos naturais com ação anti-inflamatória, os polifênois são os que apresentam uma maior atividade.

4.3 Avaliação da atividade antinociceptiva

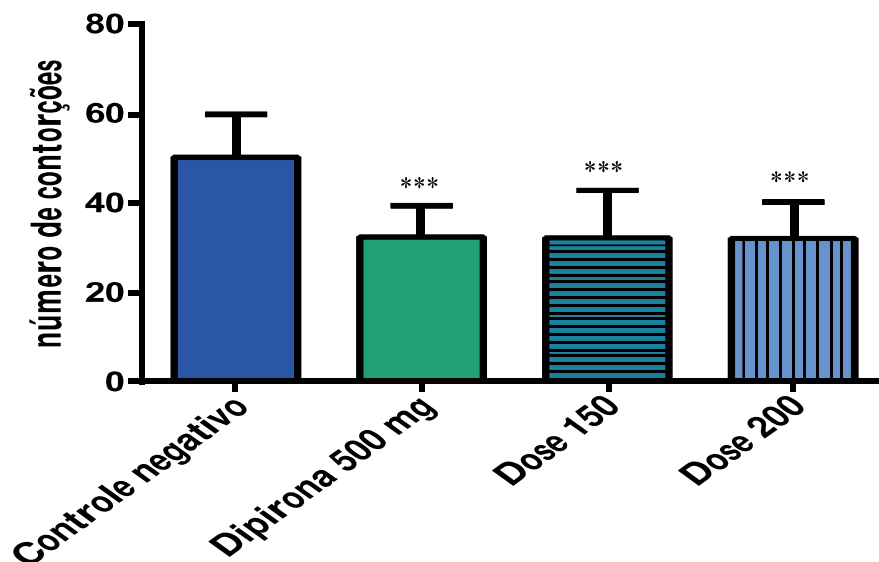
4.3.1 Teste de contorções abdominais

Para a avaliação da atividade antinociceptiva foi utilizado o teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, descrito como um modelo clássico de nociceção inflamatória visceral, caracterizada pela contração abdominal e pelo alongamento das patas traseiras (SALVADORI, 2013).

Foi utilizado, neste modelo de atividade antinociceptiva, a fases acetato de *Apodanthera congestiflora* nas concentrações de 150 e 200 mg/kg e a dipirona (500 mg/kg), que obtiveram um percentual de inibição de 35,8%, 36,1% e 35,4%, respectivamente, em relação ao grupo controle negativo (Figura 4).

Os mediadores inflamatórios liberados a partir de células não neuronais durante a lesão tecidual aumentam a sensibilidade dos nociceptores e potencializam a percepção da dor (BRUNTON et al., 2012). Assim sendo, o teste de contorções abdominais em camundongos é um método muito utilizado para se avaliar a atividade analgésica de substâncias contra dor de origem inflamatória, na qual o ácido acético na concentração de 1% (v/v) induz lesão no abdômen do camundongo, o suficiente para provocar os espasmos traduzidos como contorções.

Figura 4 - Efeito antinociceptivo da FaAce-Ac pelo método das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo veículo; n=6; *** = $p < 0,001$.

Akter et al. (2014) encontraram resultados semelhantes, quando testaram a atividade de *Trichosanthes anguina* L. (Cucurbitaceae) pelo mesmo modelo experimental. O extrato metanólico desta planta foi testado em quatro concentrações diferentes e teve um percentual de inibição entre 35 e 45%, inibindo significativamente o número de contorções abdominais e corroborando o presente estudo.

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se inferir que a espécie em estudo apresenta-se como promissora no tratamento da dor e do processo inflamatório, necessitando-se, ainda, de estudos mais aprofundados.

5 CONCLUSÃO

O presente trabalho compreendeu o estudo da fração acetato de etila da espécie *Apodanthera congestiflora*, onde não foram evidenciadas alterações comportamentais nem alterações macroscópicas nos órgãos estudados, demonstrando baixa toxicidade.

Também evidenciou-se que a fase possui significativa atividade anti-inflamatória e antinociceptiva, nos testes de peritonite induzida por carragenina e contorções abdominais, respectivamente, mostrando-se uma promissora fonte para desenvolvimento de novo medicamento fitoterápico, com atividades farmacológicas testadas.

Porém, faz-se necessários estudos de maior aprofundamento para avaliar a eficácia e segurança de seu uso.

TOXICOPHARMACOLOGICAL EVALUATION OF SPECIES *Apodanthera congestiflora* Cong (Cucurbitaceae)

*Ingrid Laiz de Oliveira Cabral

ABSTRACT

The inflammatory process can be evoked by a great variety of harmful agents, where the action of inflammatory mediators such as bradykinin, prostaglandins, endothelin and sympathomimetic amines, can cause sensitization of nociceptors, leading to pain phenomenon. Non-steroidal anti-inflammatory drugs are among the most widely prescribed drugs in the world and have in common the ability to control inflammation, promote analgesia, and combat fever, but they trigger several undesirable effects. There is, therefore, a need to research new treatments that are more effective and safer, with fewer side effects. Thus, the use of products from the flora can present economic advantages, effectiveness and less undesirable effects in relation to the available products. Species of the Cucurbitaceae family are responsible for important biological activities, such as *Apodanthera congestiflora*, popularly known as the "cabeça de negro", which is a medicinal plant, native to the semi-arid region. Thus, this work aimed to evaluate the toxicity as well as the potential anti-inflammatory and antinociceptive activity of the ethyl acetate fraction of *A. congestiflora*. Adult Swiss albino mice of both sexes, weighing between 25 and 35g, were used. For the safety study of the use of the species, the fixed dose acute toxicity model was used. The model used for anti-inflammatory activity was carrageenan-induced peritonitis. For the antinociceptive potential was performed the test of abdominal writhings induced by acetic acid. The experimental protocols were submitted and approved by the FACISA's Ethics Committee on Animal Use (CEUA). Data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) using the Prism 5.0 program. In acute toxicity, the dose of 2000 mg/kg was not able to cause

death, changes in behavioral or physiological patterns (water consumption, ration, body weight) of the animals, as well as changes in organ weight, being therefore considered safe to carry out the other studies. In the carrageenan-induced peritonitis model, inhibition of 44.0%, 38.9% and 73.8% was obtained for the doses of 100, 150, 200 mg/kg, respectively, in the leukocyte migration, when compared to the negative control. While in the abdominal writhing test, the percentage of inhibition found was 35.76% and 36.08%, respectively, for the doses of 150 and 200 mg/kg, when compared to the negative control. These data show that the studied substance has significant anti-inflammatory and antinociceptive activity. In this way, the ethyl acetate phase of *Apodanthera congestiflora* presents itself as a promising source for the development of a new phytotherapeutic drug.

Key words: Anti-inflammatory activity, Antinociception, Cabeça de negro.

6 REFERÊNCIAS

- ADER, J.; CARRÉ, F.; DINH-XUAN, A.T. et al. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Ed. Ganabra – Koogan, 2006.
- AKTER, M. et al. Antihyperglycemic and antinociceptive activity evaluation of methanolic extract of *Trichosanthes anguina* fruits in Swiss albino mice. **Advances in Natural and Applied Sciences**, v. 8, n. 8, p. 70-75, 2014.
- ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A. C. G. M.; DINIZ, R. S. T.; QUINTANAS-JÚNIOR, L. J.; POLARI, R. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; DUARTE, J. C.; FERREIRA, C. D.; ANTONIOLLI, A. R.; ARAÚJO, C. C. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Rev. Bras. Farm.**, v.80, p.72-76, 1999.
- ALMEIDA, J.R.G.S. et al. Antinociceptive Activity of Ethanol Extract from *Duguetia chrysocarpa* Maas (Annonaceae). **The Scientific World J.**, Petrolina, p.1-6, 2012.
- AL-YAHYA, M. A.; AL-FARHAN, A. H.; ADAM, S. E. I. Preliminary toxicity study on the individual and combined effects of *Citrullus colocynthis* and *Nerium oleander* in rats. **Fitoterapia**, v. 71, n. 4, p. 385-391, 2000.
- ATTANAYAKE, A. P. et al. Efficacy and toxicological evaluation of *Coccinia grandis* (Cucurbitaceae) extract in male Wistar rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 3, n. 6, p. 460-466, 2013.
- AZEVEDO, L.F. et al., Epidemiology of chronic pain: a population-based nationwide study on its prevalence, characteristics and associated disability in Portugal. **The Journal of Pain**, v.13, n. 8, p. 773-783, 2012.
- BAGGIO, C.H. **Mecanismos de ação envolvidos na atividade antinociceptiva e anti-inflamatória da (1→3),(1→6) β-glucana isolada do *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel.** Curitiba. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, 2010.
- BATISTA, J.S.; OLINDA, R.G.; MEDEIROS, V.B.; RODRIGUES, C.M.F.; OLIVEIRA, A.F.; PAIVA, E.S.; FREITAS, C.I.A.; MEDEIROS, A.C. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciência Rural**, v.42, n.01, 2012.
- BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. **Arq Bras Cardiol**, v.94, n.4, p.556-563, 2010.

BERTOLINI, G.R.F.; MATOS, C.M.P; ARTIFON, E.L.; FERRARI, D.; VITURI, R.F. Functional assessment of knee nociception of rats treated with low-level laser therapy and swimming. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v.17, n.1, p.45-48, 2011.

BESSA, N. G. F.; BORGES, J. C. M.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M. A. B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S. L.; RIBEIRO, L. U.; QUIRINO, M. S.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, n.4, supl.I, p.692-707, 2013.

BORGES, J.C.M. **Acetilbergenina: obtenção e avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória**. Belém. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pará, 2010.

BRITO, S.C.D. Os efeitos do marco regulatório sobre a competitividade da cadeia produtiva de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Fundação Universidade Federal de Tocantins - TO**, p. 96, 2010.

BRITO, R.G. **Atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do citronelol em roedores**. Aracaju. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal de Sergipe, 2013.

BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, B.C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12.ed., Rio de Janeiro: AMGH, 2012.

CARLINI, E.A.; MENDES, F.R. **Protocolos em psicofarmacologia comportamental: Um guia para pesquisa de drogas com ação sobre o SNC, com ênfase nas plantas medicinais**. São Paulo: Editora Fap – Unifesp, 2011.

CASTRO, R.A. **Avaliação do Potencial Analgésico e Anti-inflamatório do Composto Pirazólico 1,5-difenil-3-hidrazinopirazol(a) – DHP**. Seropédica. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2011.

CASTRO, R.J.A.; LEAL, P.C.; SAKATA, R.K. Pain Management in Burn Patients. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.63, n.1, p.149-158, 2013.

CORTES, M.L.; CASTRO, M.M.C.; JESUS, R.P.; NETO, J.A.B.; KRAYCHETE, D.C. Uso de terapêutica com ácidos graxos ômega-3 em pacientes com dor crônica e sintomas ansiosos e depressivos. **Revista Dor**, v.14, n.1, p.48-51, 2013.

CUNHA, L.C.; MELO, D.F.A.; PEREIRA, M. E.; MELO, D.S; PARENTE, L.L.; SILVA, M.A.C.; CONCEIÇÃO, E.C.; GONZAGA, L.Q.S. Avaliação da toxicidade aguda do extrato aquoso de *Apeiba tibourbou* Aubl (Tiliaceae), em camundongos e ratos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, Goiás, v.34, n.3, p.357-362, 2013.

DA SILVA, G.A. et al. Gênero *Spondias*: aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. **Revista de Biologia e Farmácia**, v.10, n.01, p.1-16, 2014.

DUTRA, M.G. **Plantas medicinais, fitoterápicos e saúde pública: um diagnóstico situacional em Anápolis**. Goiás. Dissertação (Mestrado Multidisciplinar em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente). Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica, 2009.

FERRÁNDIZ, M. L.; ALCARAZ M. J. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. **Agents and Actions**, v. 32, p. 283-288, 1991.

GOMES-KLEIN, V. L.; LIMA, L. F. P.; COSTA, G. A.; MEDEIROS, E.S. *Cucurbitaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB17036>>. Acesso em: 27 de fevereiro de 2017.

KATZUNG, B.G.; MASTERS, S.B.; TREVOR, A.J. **Farmacologia Básica e Clínica**. 12.ed., Porto Alegre: AMGH, 2014.

KLAUMANN, P.R.; WOUK, A.F.P.F.; SILLAS, T. Patofisiologia da dor. **Archives of Veterinary Science**, v.13, n.1, p.1-12, 2008.

KUMARI, K.D.K.P. et al. Anti-inflammatory activity of dried flower extracts of *Aegle marmelos* in Wistar rats. **J Ethnopharmacol.**, v. 151, p. 1202–1208, 2014.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; CASTRO, M. S.; LIMA, T. C. M. Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais. **Ed. Lagoa**, Florianópolis, 2003.

LEAL, I. A. B. **Estudo taxonômico das espécies da família Cucurbitaceae Juss. ocorrentes no Distrito Federal, Brasil**. Goiânia. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal de Goiás, 2013.

LEMOS, M.; SANTIN, J.R.; KLEIN JÚNIOR, L.C.; NIERO, R.; DE ANDRADE, S.F. Gastroprotective activity of hydroalcoholic extract obtained from the leaves of *Brassica oleracea* var. *acephala* DC in different animal models. **Journal of Ethnopharmacology**, v.138, n.2, p.503–507, 2011.

MACHADO, V.R. et al. Di-hidrocurbitacina B: semi-síntese de novos derivados glicosilados. **Quím. Nova**, v. 38, n. 1, p. 37-41, 2015.

MACIEL, M.A.M. et al. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-438, 2002.

MEHTA, J.P. et al. In-vitro antioxidant and in-vivo anti-inflammatory activities of aerial parts of Cassia species. **Arab J Chem.**, 2013.

MIRÓ, M.; Cucurbitacins and their pharmacological effects. **Phytother. Res.**, v. 9, n.3, p. 159-163, 1995.

NEE, M. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Cucurbitaceae. **Rodriguésia**, v. 58, n. 3, p. 703-707, 2007.

OUEDRAOGO, M.; BAUDOUX, T.; STÉVIGNY, C.; NORTIER, J.; COLET, J.M.; EFFERTH, T.; QU, F.; ZHOU, J.; CHAN, K.; SHAW, D.; PELKONEN, O.; DUEZ, P. Review of current and “omics” methods for assessing the toxicity (genotoxicity, teratogenicity and nephrotoxicity) of herbal medicines and mushrooms. **J Ethnopharmacol.**, v.140, n.3, p.492-512, 2012.

PRIETO, P. et al. The assessment of repeated dose toxicity in vitro: a proposed approach. **Alternatives to laboratory animals**, v. 34, n. 3, p.315-341, 2006.

RAFF, H.; LEVITZKY, M. **Fisiologia médica: uma abordagem integrada**. Porto Alegre: AMGH, 2012.

RAJEH, M.A.B. et al. Acute toxicity impacts of euphorbia hirta l extract on behavior, organs body weight index and histopathology of organs of the mice and *Artemia salina*. **Pharmacognosy Res.**, v. 4, n. 3, p. 170-177, 2012.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J.; HANDERSON, G. **Farmacologia**. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 768p.

ROQUE, A.A.; ROCHA, R.M.; LOIOLA, M.I.B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.12, n.1, p.31-42, 2010.

SAHA, S.; HOSSAIN, F.; ANISUZZMAN, M.; ISLAM, M. K. Pharmacological evaluation of *Musa seminifera* Lour. fruit. **Journal of Integrative Medicine**, v.11, n.4, p.253-261, 2013.

SALVADORI, M. G. S. S. Mecanismo de ação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do (-)-mirtenol. João pessoa. Originalmente apresentada como tese de doutorado. **Universidade Federal da Paraíba**, 2013.

SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). **Taxon**, v. 60, n. 1, p. 122–138, 2011.

SILVA, L.M. **Mecanismos de ação envolvidos no efeito gastroprotetor do extrato etanólico de *Arctium lappa* L. em úlceras gástricas crônicas induzidas por ácido acético**

em ratos. Curitiba. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, 2010.

SILVA, L.P.; ANGELIS, C.D.; TOMA, W. Avaliação da atividade antiulcerogênica do extrato etanólico obtido a partir das folhas de *Terminalia catappa* L. (combretaceae). **Revista Ceciliansa**, v.2, n.2, p.20-22, 2010.

SILVA, F.O.C.; MACEDO, D.V. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v.13, n.4, p.320–328, 2011.

SILVA JÚNIOR, F.J.T.M; SOUZA, A.E.F. **Utilização de plantas nativas da região do Semiárido paraibano como forma de tratamento alternativo na Medicina Veterinária.** 2013. Disponível em: <<http://expedicaosemiario.org.br/wp-content/uploads/2013/08/Artigo-Fabio.pdf>>. Acesso em: 26 de fevereiro de 2017.

SILVEIRA, P.F.; BANDEIRA, M.A.M.; ARRAIS, P.S.D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Bra. J. Pharmaco.**, v.18, n.4, p.618-626, 2008.

SOUZA-MOREIRA, T.M.; SALGADO, H.R.N.; PIETRO, R.C.L.R.; O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Bra. J. Pharmaco.**, v.20, n.3, p.435-440, 2010.

TCHAMADEU, M.C.; DZEUFUET, P.D.D.; NANA, P.; KOUAMBOU NOUGA, C.C.; NGUEGUIM TSOFAK, F.; ALLARD, J.; BLAES SIAGAT, N.R.; ZAPFACK, L.; GIROLAMI, J.P.; TACK, I.; KAMTCHOUING, P.; DIMO, T. Acute and sub-chronic oral toxicity studies of an aqueous stem bark extract of *Pterocarpus soyauxii* Taub (Papilionaceae) in rodents. **J Ethnopharmacol.**, v.133, n.2, p.329-335, 2011.

THOMAZZI, S. M. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Bowdichia virgilioides* (sucupira). **J. Ethnopharmacol.**, Sergipe, v.127, n.2, p. 451-456, 2010.

VALADARES, M.C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após a “era do teste DL50”. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 93-98, 2006.

VARALDA, D.B.; MOTTA, A.A. Reações adversas aos antiinflamatórios não esteroidais. **Rev. Bras. Alerg. Imunopatol.** v. 32, n.1, p.27-34, 2009.

VERRI JR, W.A. et al. Cytokine Inhibitors and Pain Control. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v 47, n.5, p.341-353, 2007.