



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**

**CAMPUS I**

**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**

**CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**STEFFANIE MUNIZ DEUSDARÁ LUZ**

**ATIVIDADE ANALGÉSICA E TOXICIDADE DA *Spondia mombin* L. EM MODELOS ANIMAIS.**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2014**

**STEFFANIE MUNIZ DEUSDARÁ LUZ**

**ATIVIDADE ANALGÉSICA E TOXICIDADE DA *Spondia mombin L.* EM MODELOS ANIMAIS.**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Farmácia Generalista da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia Generalista.**

**Orientador (a): Profa Dra. Vanda Lucia dos Santos**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2014**

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.

L979a Luz, Steffanie Muniz Deusdará.  
Atividade analgésica e toxicidade da *Spondia mombin* L. em modelos animais [manuscrito] / Steffanie Muniz Deusdará Luz. - 2014.

33 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2014.

"Orientação: Prof. Dr. Vanda Lucia dos Santos, Departamento de Ciências Biológicas".

1. Toxicidade. 2. *Spondia mombin* L. 3. Atividade analgésica. 4. Cajazeira. I. Título.

21. ed. CDD 615

**STEFFANIE MUNIZ DEUSDARÁ LUZ**

**ATIVIDADE ANALGÉSICA E TOXICIDADE DA *Spondia mombin L.* EM MODELOS ANIMAIS.**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Farmácia Generalista da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia Generalista.**

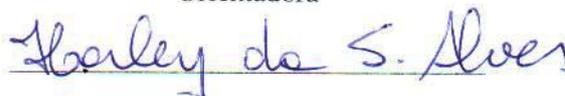
**Orientador (a): Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos**

Aprovada em 16 /06/2014.



Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos / UEPB

Orientadora



Prof.Dr. Harley Alves da Silva / UEPB

Examinador



Profª Drª Ivana Maria Fechine / UEPB

Examinadora

Dedico este trabalho as pessoas que sempre acreditaram na minha capacidade, me dando apoio, carinho e amor. Sempre me ensinando a ser persistente. Dedico a Deusilande Muniz Deusdará Luz e Pablo André da Luz

## AGRADECIMENTOS

A Deus toda honra e toda glória. Pois sem Ele, nada seria possível. Nesses cinco anos árduos, porém gratificantes, consegui muito mais que maturidade, experiências e amigos, realizei meu sonho de me tornar Farmacêutica. Sonho este que foi possível pelo apoio da minha família, minha mãe, sempre me dando exemplo de como as dificuldades podem nos tornar fortes e que a vontade de vencer supera qualquer obstáculo, ao meu pai, por seu incansável trabalho para que eu aqui pudesse estar, por seu exemplo de honestidade e compromisso. Meu amado noivo, Pablo, que por muitas vezes teve que enxugar meu pranto, ouvindo meus problemas e sempre me apoiando com todo amor que eu pudesse receber. A minha irmã, Suemily, que me fez querer ser mais, só para poder ser um exemplo pra ela.

Agradeço aos meus colegas de turma, que sem eles minha caminhada não teria sido tão linda e feliz. A turma Farmácia 2009.2 será mais que uma página da minha vida, será parte de mim. A minha amiga Ana Carolina que se fez mais que presente nesses cinco anos, se fez minha irmã e confidente.

Agradeço ao prof<sup>o</sup> Harley pela ajuda, que de forma generosa se dispôs do seu tempo para que meu trabalho fosse mais completo. Agradeço imensamente a prof<sup>a</sup> Vanda Lucia por ser mais que uma orientadora, por ter sido um exemplo para mim nos anos de pesquisa em que tive o prazer de aprender com seus ensinamentos, que ultrapassaram a Farmacologia. A todos os professores mestres que fizeram parte do meu crescimento tanto profissional quanto humano, vocês formaram um pilar na minha vida.

Enfim, á todos que se fizeram presentes neste momento, que direta ou indiretamente fazem parte desta conquista, meu MUITO OBRIGADA.

# ATIVIDADE ANALGÉSICA E TOXICIDADE DA *Spondia mombin* L. EM MODELOS ANIMAIS.

Luz, S. M. D<sup>1</sup> ; SANTOS, V. L<sup>2</sup>

## RESUMO

*Spondia mombin* L., é popularmente conhecida como Cajazeira. Seus frutos são utilizados pela população do nordeste brasileiro na alimentação. A casca do caule é usada como cicatrizante e suas folhas são empregadas para o tratamento de febre, diarreia, blenorragia e hemorroidas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade analgésica do EEtB de *S. mombin* nos modelos de nocicepção induzida por ácido acético em camundongo, assim como testar sua toxicidade para determinação da CL50 frente a *A. salina* e DL50 em animais. Foi realizada também uma triagem fitoquímica com o intuito de se verificar as classes de metabolitos secundários presentes do EEtB da Cajazeira. No screening qualitativo foi possível sugerir a presença de saponinas, taninos e fenóis. Os resultados obtidos demonstraram que o extrato possui atividade analgésica, não sendo evidenciada letalidade no teste de toxicidade aguda, ou seja, não se obteve DL50 garantindo então segurança no seu uso. Assim, conclui-se que o extrato de *S. mombin* se mostrou promissor para a busca de novos fármacos de origem vegetal.

**Palavras-chaves:** *Spondia mombin* L., atividade analgésica, toxicidade aguda.

<sup>1</sup>Graduanda do curso de Farmácia Generalista/ Departamento de Farmácia / Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

<sup>2</sup>Professora, Doutora, Pesquisadora/ Departamento de Farmácia / Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

## 1-INTRODUÇÃO

A utilização de plantas no atendimento à saúde é tão antiga quanto à própria humanidade. Os primeiros povos buscaram no reino vegetal medicamentos para aliviar o sofrimento provocado por doenças ou acidentes. Através da observação constante e da experimentação empírica desses recursos, os povos de todos os tempos e todos os continentes produziram, ao longo da história, um importante saber sobre as propriedades medicinais das plantas (VIERA et al., 2012).

Apesar da efetiva contribuição da medicina popular na introdução de drogas novas à terapêutica, uma parcela muito pequena de espécies vegetais foi investigada quanto à identificação de princípios ativos naturais.

Sabe-se que a medicina, ao longo dos tempos, sempre lançou mão das plantas medicinais como recurso natural. As práticas indígenas brasileiras, aliadas aos conhecimentos orientais, são responsáveis, hoje, pela forte medicina popular brasileira. Muito inspirada nos rituais sobrenaturais, esta medicina é, com certeza, a alternativa de muitos brasileiros, principalmente, em regiões com infraestrutura deficitária. O uso popular dessas plantas comprova que há uma gama quase infinita de aplicações curativas e preventivas e que o conhecimento – popular e científico – é imprescindível para se obter os resultados desejados (LIMA et al, 2007).

O uso de plantas medicinais pode ser influenciado pela questão econômica, o alto custo dos medicamentos e o difícil acesso a consultas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), também pela dificuldade de locomoção daqueles que residem em áreas rurais ou pela tendência atual de utilização de recursos naturais como alternativa aos medicamentos sintéticos. (VENDRÚSCOLO & MENTZ 2006).

Na tentativa de aliar o conhecimento cultural com a realidade atual, em todo o mundo vêm sendo realizadas pesquisas científicas, para verificar a atividade farmacológica ou a eficácia de produtos naturais no tratamento de diversas doenças a exemplo das de origem inflamatória (FOGLIO et al, 2006) que podem ser tratadas ou controladas com produtos de origem vegetal.

Segundo MARTINS (1995), as plantas medicinais, que têm avaliadas a sua eficiência terapêutica e a toxicologia ou segurança do uso, dentre outros aspectos, estão cientificamente aprovadas para serem utilizadas pela população nas suas necessidades básicas de saúde, em função da facilidade de acesso, do baixo custo e da compatibilidade cultural com as tradições

populares. Uma vez que as plantas medicinais são classificadas como produtos naturais, a lei permite que sejam comercializadas livremente, além de poderem ser cultivadas por aqueles que disponham de condições mínimas necessárias. Com isto, é facilitada a automedicação orientada nos casos considerados mais simples e corriqueiros de uma comunidade, o que reduz a procura pelos profissionais de saúde, facilitando e reduzindo ainda mais o custo do serviço de saúde pública.

Nos últimos dez anos, a legislação brasileira para medicamentos fitoterápicos evoluiu muito em vários aspectos, aproximando-se das diretrizes internacionais podendo ser citadas várias regras que demonstrem claramente esse avanço. Houve uma melhora no controle de matérias-primas e medicamentos fitoterápicos, criando-se leis para uniformizar os estudos de estabilidade, orientando na validação de métodos analíticos e bioanalíticos, e para realizar estudos pré-clínicos de toxicidade (BRASIL. ANVISA, 2004 e 2010)

A espécie utilizada neste estudo, *Spondias mombim*, é muito comum na região norte e nordeste do Brasil, onde é utilizada popularmente como cicatrizante, antitérmica, antidiarréica, antidesintérica, antiblenorrágica e anti-hemorroidiária.

No gênero *Spondias*, algumas espécies como a *S. purpurea* apresentam atividades anti-ulcerogênica (ALMEIDA, 2013) e antidiarréica (RAMOS, 2013) comprovadas. Assim, um estudo sobre a espécie *S. mombim* poderá validar o seu uso popular e tornar esta espécie um alvo promissor para o tratamento de doenças de origem inflamatória e dolorosa.

Este estudo tem como objetivo avaliar a toxicidade (letalidade) da Cajazeira, assim como testar sua atividade analgésica por modelos animais de nocicepção. Desta forma, dar mais suporte para estudos complementares e criação de novos fármacos.

## 2- REFERENCIAL TEÓRICO

O uso dos produtos naturais em especial as plantas medicinais iniciou-se há milhares de anos por populações de vários países com o intuito de tratar diversas patologias. Eram utilizados pela população como forma alternativa ou complementar aos medicamentos sintéticos. As plantas medicinais têm um importante papel na saúde mundial. Apesar dos grandes avanços observados na medicina moderna, nas últimas décadas, elas continuam sendo utilizadas e, estima-se que, cerca de 25% a 30% de todas as drogas avaliadas como agentes terapêuticos são derivados de produtos naturais (Veiga-Junior & Mello, 2008).

O emprego de plantas como medicamento tem uma grande importância na terapêutica mundial, uma vez que de acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), 80 % da população mundial faz uso de plantas medicinais no tratamento de suas afecções sendo a maioria, nos países em desenvolvimento (GACHET et al, 2010).

As grandes fontes de biodiversidade são as florestas tropicais, localizadas em países em desenvolvimento como o Brasil, sendo este, o detentor da maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta e de um terço da flora mundial. No entanto, possui um conhecimento científico relativamente baixo das plantas destinadas ao uso medicinal (KLEIN, 2009).

O consumo de produtos de origem vegetal tem aumentado a cada dia e este consumo pode estar associado ao fato de que as populações questionam os perigos do uso irracional dos medicamentos alopáticos associados a seus custos muitas vezes dispendiosos e procuram substituí-los pelo uso de plantas medicinais (KLEIN, 2009).

Diante desse quadro, é possível constatar o grande interesse por plantas medicinais, tanto em âmbito nacional quanto internacional, pois estas apresentam um potencial terapêutico e econômico, visado especialmente por indústrias farmacêuticas que realiza a prospecção de novos produtos. (MIOLI-AZEVEDO & FONSECA-KRUEL, 2007).

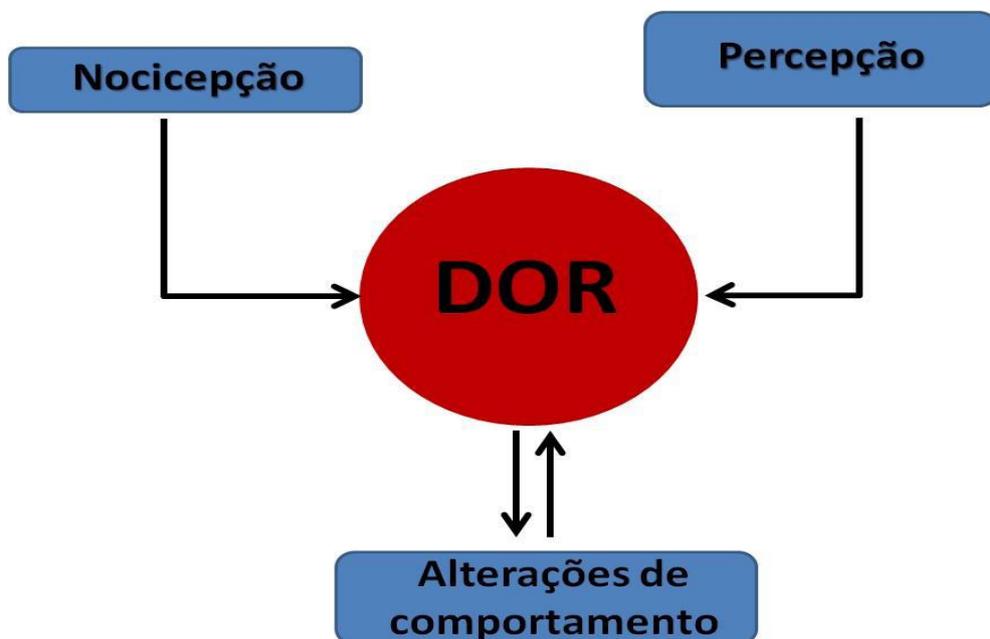
O interesse em investigar plantas com atividade analgésica reside no fato de que as mesmas têm uma vasta aplicação em vários processos patológicos. Devido à baixa eficácia e expressivos efeitos adversos apresentados pela maioria dos fármacos disponíveis no mercado farmacêutico para este fim, surge o grande interesse dos pesquisadores na descoberta de novos protótipos de fármacos provenientes de plantas da flora brasileira. Vários modelos *in vivo* são utilizados na pesquisa de compostos com atividade analgésica. Várias das técnicas descritas, utilizadas para um *screening* da atividade antinociceptiva são gerais e independem do composto a ser ensaiado. Apesar de, na maioria das vezes, não se chegar ao mecanismo de

ação definitivo da substância ou extrato da planta em estudo, esses modelos experimentais são de grande importância e representam o ponto de partida para a caracterização farmacológica de novos compostos capazes de interferir com o curso da dor.

## 2.1 – Dor e Inflamação

A dor foi conceituada pela primeira vez em 1986, pela Associação Internacional para o Estudo da Dor, como uma experiência sensorial e emocional desagradável que está associada a lesões reais ou potenciais. O termo nocicepção está relacionado com o reconhecimento de sinais dolorosos pelo sistema nervoso, que formulam informações relacionadas à lesão. Baseado nestes conceitos, o termo dor seria melhor aplicado a seres humanos do que aos animais, pelo fato deste termo envolver um componente emocional. Mesmo assim tornou-se uma convenção o uso do termo “dor” para pacientes humanos e animais (HELLEBREKERS, 2002).

A nocicepção leva a dor, a intensidade da dor vai variar conforme a percepção individual que pode levar a uma alteração comportamental. A alteração comportamental também pode levar a aumentar a percepção da dor (GUILHERME, 2012).



**Figura 1:** Esquema das diferentes fases que envolvem o processo doloroso

Fonte: GUILHERME, 2012.

A dor fisiológica é aquela que induz respostas protetoras, como o reflexo de retirada (ou reação de fuga), com intuito de interromper a exposição ao estímulo nocivo. Este sinal é típico da dor aguda produzida por estímulos intensos na superfície da pele. A dor visceral e a dor somática profunda são causadas por estímulos inevitáveis e apresentam respostas adaptativas específicas, geralmente são subagudas e podem vir acompanhadas de respostas autonômicas ou comportamentais específicas (HELLEBREKERS, 2002).

A dor persistente pode ser subdividida segundo sua origem em nociceptiva e neuropática. A dor nociceptiva resulta da ativação direta de nociceptores da pele e outros tecidos em resposta a uma lesão tecidual, acompanhada de inflamação. A dor neuropática ou neurogênica origina-se devido a lesões de nervos periféricos ou do sistema nervoso central (ALMEIDA *et al.*, 2006).

O componente fisiológico da dor é chamado nocicepção, que consiste dos processos de transdução, transmissão e modulação de sinais neurais gerados em resposta a um estímulo nocivo externo. De forma simplificada, pode ser considerado como uma cadeia de três-neurônios, com o neurônio de primeira ordem originado na periferia e projetando-se para a medula espinhal, o neurônio de segunda ordem ascende pela medula espinhal e o neurônio de terceira ordem projeta-se para o córtex cerebral (TRANQUILLI, 2004). Dessa maneira, o funcionamento adequado do sistema nociceptivo é essencial para proteger o organismo de danos teciduais. Entretanto, sob condições patológicas, este sistema se torna sensibilizado e a dor transforma-se em uma doença (BAGGIO, 2010).

Os dois sistemas de modulação nociceptiva mais importantes são mediados por receptores NMDA (N-Metil-D-Aspartato) e opióides, distribuídos por toda extensão do sistema nervoso central. Entre os três principais subtipos de receptores opióides, os receptores  $\mu$  e  $\delta$  podem inibir ou potencializar eventos mediados pelos receptores NMDA, enquanto o receptor  $\kappa$  antagoniza a atividade mediada por receptores NMDA (RIEDEL e NEECK, 2001).

A inflamação é um processo fisiológico regulatório fundamental ao organismo iniciado como consequência de lesão tecidual desencadeada em resposta a diversos fatores tais como: trauma mecânico, privação de oxigênio, nutrientes, alterações imunológicas, genéticas, agentes químicos, microorganismos, temperaturas extremas, radiação ultravioleta (MURPHY, 2010). A principal função da inflamação é eliminar o estímulo patogênico para remover o tecido danificado com o objetivo de restaurar a homeostase (SOEHNLEIN e LINDBOM, 2010).

A resposta inflamatória é um processo de reparo, em que há a destruição, diluição do agente iniciador e uma série de eventos que tentam curar e reconstituir o dano tecidual.

Durante o reparo, o tecido lesionado é substituído (regeneração) por células parenquimatosas, com preenchimento no local da lesão por tecido fibroso (cicatrização) ou, mais comumente, pela combinação dos dois processos (ROBBINS e COTRAN, 2005).

É caracterizada pelo calor, dor, rubor e inchaço, sendo esses fatores derivados dos efeitos de mediadores (Interleucina-1, prostaglandinas, quimiocinas) e células inflamatórias (macrófagos, leucócitos) diretamente sobre os vasos sanguíneos locais (MURPHY, 2010). Pode ser também desencadeada por outras vias como aquelas relacionadas à produção de quimiocinas (como histamina e bradicinina), prostaglandinas (PGs) e tromboxanos (TXs), assim como o óxido nítrico (NO) que tem ação nos vasos sanguíneos, componentes do sistema complemento, fator de necrose tumoral (TNF), interferons (INF), metaloproteinases de matriz extracelular (MMP) e fator de agregação plaquetária (PAF) (GAUTAM E JACHAK, 2009).

Diferentes classes de fármacos são utilizadas para o controle e tratamento de dor e inflamação na terapêutica e exercem seus efeitos por diferentes mecanismos. Os peptídeos opióides, como a morfina, são derivados de uma espécie de papoula chamada *Papaver somniferum* (LE MERRER et al, 2009). Os efeitos biológicos destes são mediados por receptores ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\kappa$ ) expressos no SNC (cérebro e medula espinhal) e na periferia. Estes receptores são associados com uma gama de respostas fisiológicas e psicológicas desencadeadas por ligantes endógenos e exógenos. Peptídeos opióides e receptores são conhecidos pelos seus potentes efeitos analgésicos, pelos efeitos sedativos e hipnóticos. (LANG et al, 2010). Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) são a principal classe de medicamentos no controle da dor e inflamação, contendo efeito antiinflamatório, analgésico e antipirético. Em geral, esses efeitos estão relacionados à inibição da enzima cicloxigenase, que catalisa a transformação de ácido araquidônico em diversos mediadores lipídicos, denominados prostaglandinas e tromboxanos, estas substâncias tem importante função homeostática na proteção da mucosa gástrica, fisiologia renal, gestação e agregação plaquetária, além de terem sua produção induzida em condições como inflamação e câncer. Estudos envolvendo AINEs com seletividade para cicloxigenase-2 evidenciaram maior risco de eventos adversos cardiovasculares como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, hipertensão e insuficiência cardíaca (ARAUJO et al., 2005).

## 2.2 - Modelos Animais de Avaliação das Atividades Antinociceptiva

Muitos modelos animais de avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória são utilizados para avaliar a eficácia de novos fármacos para o tratamento de doenças inflamatórias e dolorosas, bem como estudar seus mecanismos de ação e, de medicamentos já utilizados na terapêutica, mas que não têm o mecanismo de ação farmacológica ainda totalmente esclarecido (WALKER et al, 1999).

A dor não pode ser monitorada em animais, porém ela pode ser estimada por avaliação das respostas de animais a estímulos nociceptivos. Os testes nociceptivos incluem os mais variados estímulos seja elétrico, mecânico, químico, térmico (LE BARS et al, 2001). O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético sugerido por Koster e col. (1959), é um modelo de dor visceral ocasionada pela administração i.p. de ácido acético na concentração de 0,6% (LE BARS et al, 2001). Este modelo de dor é muito utilizado para avaliar efeitos antinociceptivos periféricos de natureza antiinflamatória, uma vez que o ácido acético, na concentração utilizada, induz a dor indireta resultado de uma inflamação aguda no peritônio (IKEDA et al, 2001).

## 2.3 – Espécie selecionada

### 2.3.1 Família Anacardiaceae e o Gênero *Spondia*

A família Anacardiaceae pertence à ordem Sapindales que compreende cerca de 80 gêneros e 600 espécies predominantemente distribuídas na região Pantropical, sendo também observadas representantes nas áreas temperadas da Europa, Ásia e América do Norte. No Brasil, são encontrados cerca de 15 gêneros e aproximadamente 68 espécies, pertencentes a três diferentes tribos: Mangiferae, Spondiaceae e Rhoideae (Ferreira, 2000).

O gênero *Spondias* foi criado por Linnaeus em 1753, contendo apenas a espécie *Spondias mombim* (cajazeira) (Airy Shaw & Forman, 1967, citado por Carvalho, 2008). Atualmente, este gênero é composto por 15 espécies, sendo sete delas encontradas no Brasil e todas apresentando frutos comestíveis: *Spondias mombim* L. (cajá), *Spondias lutea* L. (cajá ou taperebá), *Spondias cytherea* Sonn. (cajá-manga), *Spondias venulosa* (cajá-mirim), *Spondias purpurea* L. (ciriguela), *Spondias tuberosa* Arr. (umbu) e *Spondias sp* (umbu-cajá) (Pires, 1990).

### 2.3.2– *Spondia mombin* L.

A cajazeira (*Spondias mombin* L.) é uma espécie frutífera identificada por Prance e Silva (1975) como procedente da América do Sul e Antilhas, encontrando-se dispersa desde o sul do México até o Brasil. Segundo Mitachel e Daly (1995) os centros de diversidade da cajazeira são a mata Atlântica, a Amazônia Ocidental, no estado do Acre, e nas regiões limítrofes do Peru e da Bolívia. Para Vilachica (1996) a espécie distribui-se em toda a América Tropical, não existindo evidências para postular sua origem em alguma zona específica da região.

No Brasil, a cajazeira é encontrada principalmente nos Estados do Norte e Nordeste, onde seus frutos recebem diferentes denominações sendo conhecidos como: cajá, cajá verdadeiro, cajá-mirim ou taperebá. Estes são utilizados no preparo de polpas, sucos, picolé, sorvetes, néctares e geléias. A madeira é bastante utilizada em serviços de marcenaria e outras partes da planta, como as cascas e folhas, são bastante utilizadas com finalidades medicinais (SACRAMENTO, 2000).

Figura 1: Frutos e folhas da Cajazeira (*S. mombin*)



Fonte: [http://www.virboga.de/Spondias\\_mombin.htm](http://www.virboga.de/Spondias_mombin.htm)

A utilização da cajazeira na medicina popular e indústria farmacêutica é crescente, sendo empregada em casos de febre, como antidiarreica, antidesintérica, antiblenorrágica e anti-hemorroidiária. Segundo Sacramento (2000), trabalhos de pesquisa revelaram recentemente que o extrato das folhas contém taninos elágicos e propriedades antivirais. A

casca tem atividade cicatrizante. As folhas são ainda empregadas com adstringentes. Ayoka et al.(2005) relataram que o extrato das folhas possuem efeito ansiolítico com potencial de uso contra desordens psiquiátricas.

A *S. mombin* é amplamente estudada, e demonstrou resultados promissores com atividades antimicrobianos, antiedematogênicas, e antiviral (SILVA, G. et al., 2012). *Spondias sp.*, contém diversos grupos de substâncias químicas. Taninos, lactonas, terpenoides (sesquiterpenos e monoterpenos), flavonoides são alguns desses grupos de substâncias já detectadas e isoladas que ocorrem em outras espécies do gênero *Spondias*. (MENDES & ELISALDO, 2007; TALHOUK et al., 2007).

### **3- METODOLOGIA**

#### **3.1- Local da pesquisa**

O extrato etanólico bruto da casca da Cajzeira foi preparado no Laboratório de Desenvolvimento de Medicamentos (LABDEM). A triagem fitoquímica foi realizada no laboratório de fitoquímica da Farmácia Escola e os experimentos de Toxicidade e Nocicepção foram realizados no Laboratório de Ensaios Farmacológicos, da Universidade Estadual da Paraíba.

#### **3.2 Obtenção do material botânico e extrato etanólico bruto**

As cascas da Cajzeira, foi coletado na região semiárida do estado na Paraíba. As cascas foram secas e trituradas em um moinho de rotor vertical. O extrato bruto etanólico foi obtido pelo método de exaustão em etanol. Após o período de extração, o extrato etanólico foi filtrado e concentrado em evaporador rotativo a pressão reduzida, obtendo-se o extrato etanólico bruto.

A exsicata encontra-se no Herbário da Universidade Estadual da Paraíba com número: ACAM 000434.

#### **3.3 Animais**

Animais oriundos do Centro de Répteis de Campina Grande. Foram encaminhados para o Laboratório de Farmacologia da UEPB, onde os separou em grupos (machos e fêmeas), colocados em caixas com serragem, à temperatura ambiente e longe da umidade e do sol, sendo alimentados com ração até atingirem o tamanho e peso ideal para realização do experimento. Para realização dos experimentos eles precisaram ficar em jejum, 24hrs antes da realização da toxicidade e 3 hrs em jejum antes do teste de nocicepção.

#### **3.4. – Triagem fitoquímica (Prospecção preliminar)**

A triagem fitoquímica para caracterizar a presença das principais classes de metabólitos secundários presentes no extrato de *S. mombin* foi realizada segundo metodologias propostas por Costa (2002). Os testes consistiram em reações químicas qualitativas simples, que demonstraram a presença de compostos como: taninos, flavonoides, esteroides, saponinas e alcaloides. Para taninos e compostos fenólicos, utilizaram-se os métodos de precipitação com FeCl<sub>3</sub>, alcaloides; gelatina e acetato de cobre. Para flavonóides,

foram usadas as reações com cloreto de alumínio e reação de *Shinoda*, que apresentam cor específica quando há a presença destes compostos. Os esteróides foram identificados pela reação de *Liebermann-Burchard* e as saponinas pela agitação vigorosa do extrato aquoso por no mínimo 15 min com formação de espuma persistente. Finalmente, os alcalóides foram investigados pelo método de precipitação, usando os reativos de *Bouchardat*, *Dragendorf* e *Mayer*.

### **3.5- Ensaios toxico-farmacológicos**

#### **3.5.1 – Teste de Toxicidade aguda frente a *Artemia Salina***

A determinação da toxicidade do extrato para náuplios de *Artemia salina* foi baseada na metodologia descrita por Meyer e colaboradores (1982), com pequenas modificações. Para tanto, 300mg de cistos de *Artemia salina* foram transferidos para solução de água do mar sintética (NaCl 6,3 g/L; KCl 0,75 g/L; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 1,47 g/L; MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O 5,10 g/L; NaHCO<sub>3</sub> 0,21 g/L; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 6,20 g/L; pH 8,0), mantidos em temperatura entre 25 e 28°C, com iluminação lateral constante, durante o período de eclosão (24 à 36 h). Os ensaios foram realizados em tubos de ensaio nos quais foram adicionados 10 náuplios vivos e ativos de *artemias* na presença do extrato. O extrato foi testado nas concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100, 20 µg/mL. Em seguida, verificou-se a quantidade de náuplios vivos e mortos após 24 e 48 h, com auxílio de lupa. Os ensaios foram realizados em triplicata. O controle negativo foi composto somente por náuplios em água do mar sintética.

#### **3.5.2 – Teste de Toxicidade aguda em camundongos**

Camundongos “Swiss” (5 machos e 5 fêmeas) após jejum de 24 horas, foram tratados com solução salina 0,9 % (10 mL/kg), ou 2000 mg/kg dos extratos por v.o. Parâmetros (tais como: atividade geral, frêmito vocal, irritabilidade, resposta ao toque, resposta aperto cauda, contorção, posição trem posterior, reflexo endireitamento, tônus do corpo, força para agarrar, ataxia, reflexo auricular, reflexo corneal, tremores, convulsões, hipnose, anestesia, lacrimação, ptose, micção, defecação, piloereção, hipotermia, respiração, cianose, hiperemia, morte) foram avaliados no tempo de 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h após a administração do EEB e, a partir de então, diariamente, até o décimo quarto dia. Sinais de toxicidade, a época do seu aparecimento, a intensidade, a duração e a progressão dos mesmos foram anotados para posterior análise. Também foram observados e registrados diariamente, dados fisiológicos (peso corporal e consumo de água e de ração). No 14º dia os animais foram

sacrificados, realizando-se a pesagem e análise macroscópica das vísceras (fígado, rins, coração, pulmões e baço).

### **3.5.3 – Contorções abdominais induzidas por ácido acético (Atividade Antinociceptiva)**

Camundongos machos da raça “Swiss” foram divididos em grupos e tratados com veículo ou extratos em doses pré-determinadas (250 e 500 mg/kg). Uma hora após o tratamento receberam por via intraperitoneal 10 ml/kg de uma solução de ácido acético 0,6%, e, imediatamente, foram colocados sob funil de vidro para melhor visualização das contorções (movimentos estereotipados como contração da parede abdominal, rotação do corpo e extensão das patas traseiras). Foi contado o número total de contorções abdominais por um período de 20 minutos começados a contar 10 minutos após a administração do ácido acético (KOSTER et al., 1959). O grupo controle recebeu solução salina (10ml/kg) 50 min antes do teste.

### **3.6 Análise estatística**

Os testes de toxicidade aguda e da atividade analgésica foram analisados pela média  $\pm$  erro padrão da média para cada grupo. Os grupos foram comparados com o grupo controle usando o teste ANOVA, seguido pelo pós-teste de Dunnett's e Turkey respectivamente. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando  $p \leq 0,05$ .

Na determinação da CL50 (toxicidade frente ao bioensaio de *A. salina*) foi utilizado o método de Regressão Probit, com 95% de intervalo de confiança, utilizando-se o programa Statistica Trial, versão 10.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Triagem fitoquímica

No tubo que indica a presença de saponinas, após agitação vigorosa, observou-se formação de espuma branca e persistente por mais de 15 minutos. O tubo que indica a presença de taninos apresentou mudança de coloração de verde para azulado seguido de precipitado que indica a presença de compostos fenólicos e taninos. Os restantes dos tubos não apresentaram nenhuma mudança de coloração ou precipitação (Figura 2), o que indica uma ausência dos restantes dos metabólitos citados na tabela 1, precisando de mais experimentos para confirmação de tais ausências.

Conforme mostra a tabela 1, o EEtB da cajazeira apresentou positividade, sugerindo a presença para os seguintes metabólitos secundários: saponinas, taninos e compostos fenólicos.

Tabela 1: Metabólitos Secundários.

CLASSES DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	TESTES REALIZADOS	RESULTADOS
Saponinas	Agitação vigorosa	+
Fenóis e Taninos	Precipitação com FeCl <sub>3</sub>	++
Flavonóides	Reação de <i>Dragendorf</i> e <i>Mayer</i>	-
Esteróides	Reação de <i>Liebermann-Burchard</i>	-
Alcalóides	Reação com Gelatina e acetato de cobre	-

Figura 2: Tubos com as reações de coloração e precipitação para a identificação de metabólitos secundários do extrato de *S. mombin* L.



Fonte: Fotos Steffanie Muniz

Já é relatado na literatura que outros gêneros de *Spondias* contem diversos grupos de substâncias químicas a exemplo de taninos, lactonas, terpenoides (sesquiterpenos e monoterpenos) e flavonoides (MENDES & ELISALDO, 2007; TALHOUK *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos presentes nas plantas estão relacionados, principalmente, com a proteção, conferindo alta resistência a microrganismos e pragas. Na maioria dos vegetais, os compostos fenólicos constituem os antioxidantes mais abundantes. Em função da elevada atividade antioxidante que possuem, uma variedade de compostos fenólicos desempenha um papel importante nos processos de inibição do risco das doenças cardiovasculares e podem atuar sobre o estresse oxidativo, relacionado com diversas patologias crônico-degenerativas, como o diabetes, o câncer e processos inflamatórios (IMEH; KHOKHAR 2002).

As atividades antiinflamatórias e analgésicas que têm sido atribuídas às saponinas parecem se dar por mecanismos variados como inibição da degradação de corticóides, e atividade corticomimética, o que interfere no metabolismo de mediadores inflamatórios (LACAILLE-DUBOIS & WAGNER, 1996), atuando no sistema complemento, etc. Outras propriedades farmacológicas como antiulcerogênica e sedativa são atribuídas a esses compostos (CABALLEROGEOGE *et al.*, 2004).

Têm sido atribuídas aos taninos muitas atividades fisiológicas humanas, como a estimulação das células fagocíticas e a ação tumoral, e atividades anti-infecciosas

(LOGUERCIO, 2005). Em processos de cura de feridas, queimaduras e inflamações, os taninos auxiliam formando uma camada protetora (complexo tanino-proteína e/ou polissacarídeo) sobre tecidos epiteliais lesionados, permitindo que, logo abaixo dessa camada, o processo de reparação tecidual ocorra naturalmente (MELLO & SANTOS, 2001).

## 4.2 Ensaio toxicofarmacológicos

### 4.2.1 Toxicidade Aguda

Embasado nos princípios da Toxicologia, toda substância pode ser considerada um agente toxicante, dependendo das condições da exposição como dose, tempo, frequência da exposição e as mais variadas vias de administração. Por estas razões, é imprescindível conhecer as condições de uso seguro das diversas substâncias químicas que podem ser de origem vegetal, animal ou mineral, para que não ocorram danos à saúde humana ou animal, ou mesmo levando à ocorrência de agravos ao meio ambiente (VENÂNCIO, 2006).

Por isso que um fator importante na atualidade é a segurança na utilização de produtos de origem vegetal. Ao se avaliar a letalidade de uma planta medicinal, pode-se garantir que um produto elaborado a partir desta, esteja livre de efeitos tóxicos indesejáveis nas condições testadas. O uso do microcrustáceo *Artemia salina* e uma das técnicas empregadas neste sentido (MEYER *et al.*, 1982). A Toxicidade de uma substância a ser testada para fins farmacológicos e terapêuticos deve ser o primeiro passo que um investigador toxicologista ou farmacologista precisa determinar, a fim de que, durante os experimentos, não venha a ter surpresas desagradáveis com os efeitos nocivos aos animais de experimento ou até mesmo a morte deles. Uma substância altamente tóxica promoverá um efeito danoso ao organismo vivo e/ou ao ambiente, ainda quando empregado em mínimas quantidades, enquanto que as substâncias de baixa toxicidade precisam de altas doses para promover um efeito tóxico (VENÂNCIO, 2006).

A *Artemia Salina* é bastante empregada em ensaios toxicológicos, pois é de fácil manuseio, além disso, possui baixo custo, fácil cultivo e obtenção, sendo um método conveniente para a avaliação preliminar da toxicidade em aditivos alimentares e extratos vegetais (RAJEH *et al.*, 2012).

Na realização do ensaio com o extrato de *S. mombim* frente *A. salina* foi observado valores de CL50 de  $482,5 \pm 36,1$  e  $383,2 \pm 34,1$   $\mu\text{g/mL}$  para 24 e 48 horas, respectivamente (Tabela 2). Na avaliação da toxicidade de compostos ativos e extratos vegetais para *Artemia*

*salina*, um valor de CL50 inferior a 1000 µg/mL permite considerar o composto como tóxico (Meyer et al., 1982). Assim, o extrato da *Spondia mombim* L. pode ser considerado que apresenta uma toxicidade alta nas condições testadas, sendo, porém apenas um experimento preditivo como estudo preliminar de toxicidade.

Tabela 2. Valores de CL50 para o extrato se *S. Mombin* frente a *Artemia salina*

Planta	CL50 (24 hs) µg/mL	CL 50 (48 hs) µg/mL
<i>S. mombin</i> (cajazeira)	482,5±36,1	383,2±34,1

\*Não houve óbitos no grupo controle; foram expostos 30 indivíduos em cada concentração.

Meyer et al. (1982) estabeleceram uma relação entre o grau de toxicidade e a dose letal média (DL50), apresentada por compostos ativos e extratos de plantas sobre larvas de *A. salina*, desde então, considera-se que quando são verificados valores abaixo de 1000 µg/mL<sup>-1</sup>, estes, são considerados tóxicos. Estes dados toxicológicos, segundo Parra et al. (2001), podem ser correlacionados com testes de toxicidade aguda oral em animais.

Para assegurar o uso de produtos naturais, deve-se submetê-los a testes pré-clínicos de eficácia e segurança *in vivo*, por métodos recomendados pela legislação. De acordo com a RE 90 (2004), deve-se realizar o Ensaio Toxicológico Pré-clínico Agudo em animais de laboratório previamente padronizado para se obter as informações toxicológicas a respeito do produto testado (RAJEH et al, 2012). O experimento realizado na Cajazeira mostra quantitativamente e qualitativamente que a mesma está segura e apta para uso popular.

A toxicidade aguda é habitualmente definida como efeitos tóxicos que ocorrem dentro de um curto período de tempo após administração de uma dose única ou várias doses de uma substância num período de 24 horas (SYAHMI et al., 2010). Quando devidamente realizado e observado de perto, um teste de toxicidade aguda pode dar mais informações sobre as propriedades biológicas de um composto químico que qualquer outro teste.

A partir da administração da única e alta dose de 2000 mg.kg<sup>-1</sup>, v.o. em camundongos de ambos os sexos, foi observado que o extrato de *S. mombim* não promoveu morte, o que

inviabilizou a determinação da Dose Letal (DL<sub>50</sub>). Isso determina que a planta não é tóxica e nem causa maiores danos ao usuário. Os animais apresentaram apenas pequenas alterações nos parâmetros comportamentais como leve hipoventilação, hipoatividade, analgesia, perda da força para agarrar e do reflexo corneal, como mostra a tabela 3.

Tabela 3- Efeito da administração de uma única dose (2000 mg/kg) de extrato em camundongo.

Planta	Mortalidade/latência	Sinais e sintomas
<i>S. mombim</i> L.	Não	Hipoventilação, hipoatividade, analgesia, perda da força para agarrar e do reflexo corneal

Os sinais de toxicidade sistêmica são definidos também a partir da redução na massa corporal dos animais experimentais (Raza et al., 2002). Com a administração de 2g/kg de peso corporal do extrato de *S. mombim* não houve alteração no peso corporal dos animais, quando comparado com o respectivo grupo controle, indicando ausência de efeitos tóxicos agudos nessas condições.

Os animais que receberam o extrato também não apresentaram alterações significativas no peso de órgãos vitais como coração, rins, baço, fígado e pulmão em relação ao grupo controle. Os órgãos também não apresentaram alterações macroscópicas.

Além da redução do desenvolvimento ponderal, a toxicidade sistêmica se manifesta através da redução nos consumos de água e ração, alterações de comportamento, apatia e má condição da pelagem, como a presença de pêlos arrepiados (Melo, 2001), o que não foi observado nos animais experimentais. Estes dados sugerem baixa toxicidade do extrato.

### 4.3 Atividade analgésica

Entre os modelos de nocicepção química o teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético é descrito como típico modelo de dor inflamatória, sendo uma ferramenta de triagem para avaliação da atividade analgésica e anti-inflamatória de novos agentes (BAGGIO, 2010).

O modelo de contorções abdominais em camundongos baseia-se na contagem das contorções da parede abdominal seguidas de torção do tronco e extensão dos membros posteriores (writhing), como resposta reflexa à irritação peritoneal e à peritonite produzidas pela injeção intraperitoneal de ácido acético que produz uma irritação local que induz a liberação de vários mediadores endógenos como bradicinina, prostaglandinas e citocinas (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-8) que estimulam os neurônios nociceptivos, e outros mediadores como a norepinefrina e acetilcolina do sistema nervoso simpático (SOARES et al., 2009).

O extrato etanólico de *S. mombim* (Cajazeira) nas doses de 250 e 500 mg/kg administrado v.o. em camundongos, foi capaz de inibir as contorções abdominais induzidas por ácido em acético em 51,3 e 72,1%, respectivamente, quando comparado ao controle, que foi o grupo tratado apenas com solução salina. A tabela 4 e figura 4 apresenta o número de contorções obtidas para cada grupo testado no tempo total de 20 minutos de observação. As contorções foram contadas baseadas nos movimentos abdominais que o agente álgico produzia nos animais, como mostra a figura 3.

O extrato também promoveu um aumento no tempo de início das contorções (Tabela 4), mostrando uma proteção contra o agente álgico.

Tabela 4. Número de contorções abdominais e tempo de latência em camundongos tratados com *S. mombim*

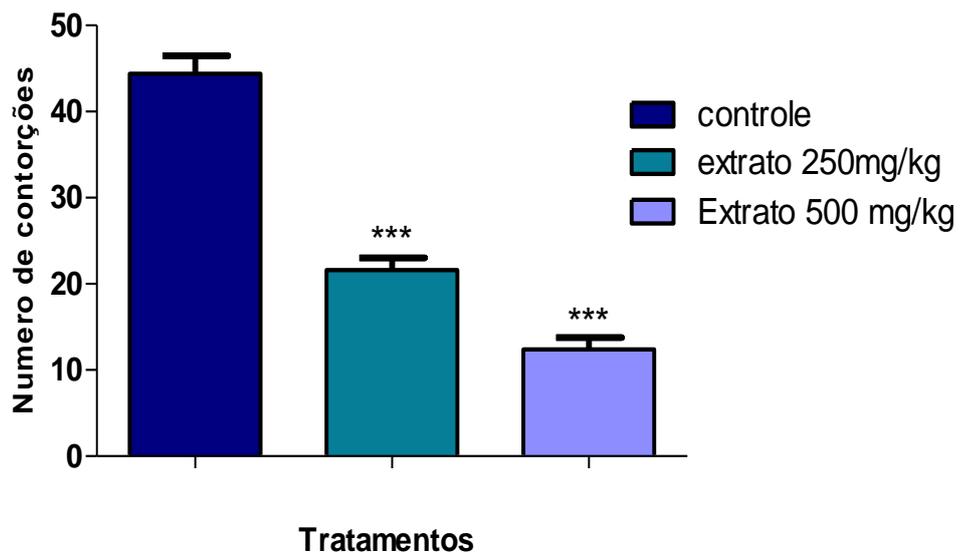
Tratamento	Número de contorções	% inibição	Tempo de latência (min)
Solução salina	44,4 $\pm$ 4,6		2,5
<i>S. mombim</i>			
250 mg/kg	21,6 $\pm$ 3,2	51,3	6,2
500 mg/kg	12,4 $\pm$ 3,1	72,1	8,8

Figura 3: Contorção abdominal no camundongo após a administração do ácido acético 0,6%.



FONTE: <http://www.neplame.univasf.edu.br/atividade-antinociceptiva.html>

Figura 4- inibição das contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongo



Como, neste modelo há uma resposta de interação de vários neurotransmissores e neuromoduladores, o que faz este modelo sensível a substâncias analgésicas de ação central e/ou periférica (ERTHAL, 2008), nossos resultados apontam para uma atividade analgésica,

mas que necessita de novas investigações para melhor caracterizar essa atividade. Como o extrato de *S.mombin* mostrou mais que 50% de inibição das contorções abdominais nos animais nas duas concentrações administradas (250 e 500 mg/kg), mostra uma atividade antinociceptiva presente, onde os números possuem significância estatística, como mostra a figura 4. Esta atividade pode está relacionada com a presença de compostos fenólicos no extrato obtido, que podem atuar como analgésicos e antiinflamatório, mas que ainda necessita de experimentos complementares para a obtenção de novos fármacos de origem vegetal.

## 5- CONCLUSÃO

Os resultados apresentados indicam um efeito analgésico (antinociceptivo) do EEtB da Cajazeira, *S. mombin*, no qual o mesmo conseguiu inibir as contorções abdominais induzidas por ácido acético, sugerindo seu potencial farmacoterapêutico como possível analgésico. Assim abrindo portas para estudos complementares como, por exemplo, teste de inflamação, já que os metabólitos encontrados sugerem essa atividade. A ausência de dose letal (DL50) da planta acaba dando suporte e segurança ao seu uso popular, já que pela RE 90 (2004), foi usada a maior dose por kg para determinar a toxicidade da mesma. Este trabalho dá embasamento para futuros estudos que tenham como objetivo o desenvolvimento de fármacos com atividade analgésica oriundos das cascas da Cajazeira, assim como esclarecer o mecanismo de nocicepção da mesma.

## ABSTRACT

*Spondia mombin L.*, is popularly known as Cajazeira. Its fruits are used by the population of northeastern Brazil in power. The stem bark is used as healing and leaves are used for the treatment of fever, diarrhea and gonorrhoea hemorrhoids. The objective of this study was to evaluate the analgesic activity of *S. mombin* EEtB models of nociception induced by acetic acid in mice, as well as testing to determine its toxicity against *A. salina* LC50 and LD50 in animals. One phytochemical screening was also performed in order to verify the classes of secondary metabolites present in the EEtB Cajazeira. In the qualitative screening was possible to suggest the presence of saponins, tannins and phenols. The results showed that the extract possesses analgesic activity, not being evidenced lethality in the acute toxicity test, ie, there was no LD50 then ensuring security in its use. Thus, it is concluded that the extract of *S. mombin L.* showed promise in the search for new drugs of plant origin.

**Keywords:** *Spondia mombin L.*, analgesic activity, acute toxicity

## REFERENCIAS

ACCIOLY, M. P.; Atividade leishmanicida *in vitro* de frações de *Spondias mombin* e *Musa paradisiaca* sobre *Leishmania chagasi*. **Universidade Estadual do Ceará**, 2009.

AMARAL, Eni. **Avaliação da toxicidade aguda de angico (*A. falcata*), pau-santo (*K.coreacea*), aroeira (*M. urundeuva*) e cipó-de-são-joão (*P. Venusta*), por meio do bioensaio com artemia salina.** Disponível em <[http://perquirere.unipam.edu.br/documents/23456/34929/artigo\\_eni.pdf](http://perquirere.unipam.edu.br/documents/23456/34929/artigo_eni.pdf)>. Acesso em 01 de abril de 2014.

AIRY SHAW, H. K.; FORMAN, L. L. **The genus *Spondias* L. (anacardiaceae) in tropical Asia.** In: CARVALHO, P. C. L. de. Relações filogenéticas em *Spondias* (Anacardiaceae). In:\_\_\_\_\_ *Spondias* no Brasil: umbu, cajá e espécies afins. Recife: IPA. 2008. p. 23-30

ALMEIDA, C. L. F. *Avaliação da atividade antidiarreica de *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae) em modelos animais.* 2013. 111p. Dissertação (Mestrado em Farmácia). Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas. 2013.

ALMEIDA, T. P.; MAIA, J. Z.; FISCHER, C. D. B.; PINTO, V. M.; PULZ, R. S.; RODRIGUES, P. R. C. Classificação dos processos dolorosos em medicina veterinária. **Veterinária em Foco**, v. 3, n. 2, p. 107- 118, 2006.

AYOKA, A.O.; AKOMOLAFE,R.O.; IIWAIEWA, E. O., UKPONMWAN O E. **Studies on the anxiolytic effect of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) extracts.** African Journal Traditional,n.2, p.153-165,2005.

BAGGIO, C. H.. Mecanismos de ação envolvidos na atividade antinociceptiva e antiinflamatória da (1→3),(1→6) b-glucana isolada do *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel., 2010. 120p. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Paraná, Centro de Ciências Biológicas.

BRASIL. ANVISA. **Resolução no. 90 de 16 de março de 2004d.** Dispõe sobre o Guia para os estudos de toxicidade de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar. 2004.

BRASIL. ANVISA. **Resolução RDC nº. 14, de 31 de abril de 2010d.** Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 abr. 2010.

CALIXTO, J. B.. **Biodiversidade como fonte de medicamentos.** Revista Ciencia e cultura. Sao Paulo, v. 55, n. 3, p. 37-39, set. 2003.

CABALLERO-GEORGE, C.; VANDERHEYDEN, P.M.L.; OKAMOTO, Y.; MASAKI, T.; MBWAMBO, Z.; APERS, S.; GUPTA, M.P.; PIETERS, L.; VANQUELIN, G.; VLITINEK, A. Evolution of bioactive saponins and triterpenoidal aglycons for their binding properties on human endothelin ETA and Angiotensin AT1 receptors. *Phytotherapy Research*, v.18, p.729-736, 2004.

COSTA, A. F. 2002. *Farmacognosia Volume I, II e III*. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. **Formalin Test - Quantitative Study of Analgesic Effects of Morphine, Meperidine, and Brain-Stem Stimulation in Rats and Cats**. *Pain*, 4, nº 2, p.161–174, 1977.

ERTHAL, V. Efeito antinociceptivo evocado pela acupuntura através das estimulações mecânica e fotônica no acuponto zusanli (E36) em ratos. **Dissertação de mestrado**. Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2008. 94p

FERREIRA, A. Z. S. **Propriedades e aplicações curativas da “aroeira-do-sertão (Myracrodruon urundueva Alemão – Anacardiaceae), na zona rural no município de caririaçu, Ceará/Brasil**. Monografia de Especialização, Universidade Regional do Cariri, p. 40, 2000.

GALLOTE, D. C.; RIBEIRO, L. F. **Ethnobotanic account of plants from the medicinal garden of Escola Superior Sao Francisco de Assis- ESFA**. 2005. Disponível em <http://www.naturezaonline.com.br> .

GACHET, M. S.; LECARO, J. S.; KAISER, M.; BRUN, R.; NAVARRETE, H.; MUNOZ, R. A.; BAUERA, R.; SCHÜHLY, W. Assessment of anti-protozoal activity of plants traditionally used in Ecuador in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 128, p. 184–197, 2010.

GAUTAM, R. & JACHAK, S. M. Recent developments in anti-inflammatory natural products. **Med Res Rev**. Vol. 29, 767-820,2009

GUILHERME, V. A. Avaliação da citotoxicidade e das atividades analgésica e anti-inflamatória do ácido p-coumárico intercalado em nanopartículas de hidróxidos duplos lamelares. Dissertação de Mestrado em Biologia Funcional, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012. 80p. Disponível em <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000879918>> Acesso em 29 de maio de 2014.

HELLEBREKERS, L. J. **Dor em Animais**. São Paulo:Manole, 2002. p. 69-79.

LIMA, Sallete M. G.; LIMA, Adão F.; DONAZZOLO, Joel. Resgate do conhecimento popular e uso de plantas medicinais na promoção da saúde em Sananduva – RS. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.1, fev. 2007.

IMEH. U.; KHOKHAR. S. Distribution of Conjugated and Free Phenols in Fruits: Antioxidant Activity and Cultivar Variations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 6.301- 6.306, 2002.

LACAILLE-DUBOIS, M.A.; WAGNER, H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine*, v.2, p. 363-386, 1996.

LANG, L. J.; PIERER, M.; STEIN, C.; BAERWALD, C. Opioids in rheumatic diseases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, vol 1193, p.111–116, 2010.

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal models of nociception. **Pharmacological Reviews**, vol 53, p.597-652, 2001.

LE MERRER, J.; BECKER, J. A. J.; BEFORT, K.; KIEFFER, B. L. Reward Processing by the Opioid System in the Brain. **Physiology Reviews**, vol 89, p.1379–1412, 2009.

LIMA, S. C. *Germinação de sementes e otimização de técnicas de micropropagação de umbuzeiro (Spondias tuberosas Arr.)*. 2009. 95f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências.

MAIOLI-AZEVEDO V.; FONSECA-KREL V. S. Plantas medicinais e ritualísticas vendidas em feiras livres no município do Rio de Janeiro, Brasil: estudo de caso nas zonas Norte e Sul. **Acta bot. bras.** V.21. n.2, p. 263-275. 2007

LOGUERCIO, A.P.. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.2, p 366-370, 2005.

MARTINS, ERNANE RONIE... [et al] . **Plantas Mediciniais**. Edição Imprensa Universitária - UFV. Viçosa. Minas Gerais. 1995. 220p.

MELO, F. B. **Estudo dos efeitos de *Lantana camara* (Verbenaceae) sobre a fertilidade e reprodução de ratos**. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Escola de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001. 120p. Disponível em<<http://www.ufrgs.br/actavet/29-2/dissertacao2.pdf>> Acesso em 02 de abril de 2014.

MELLO, J. C.P.; SANTOS, S. C. Taninos. In: SIMÕES, C.M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Ed.UFRGS/Ed.UFSC, 2001. cap. 24, p.517-543.

MENDES, S. A; ELISALDO, C. A. **Treatment of drug dependence with Brazilian herbal medicines**. Revista brasileira farmacognosia, v. 16, p. 690-695, 2007.

MEYER, N.; A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Med.** v.45, p.31-34, 1982.

MITCHELL, J.D., DALY, D.C. **Revisão das espécies neotropicais de *Spondias* (Anacardiaceae)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 46., 1995, São Paulo. Anais... São Paulo: USP,1995.p.207

MURPHY, K. *Imunobiologia*. Poto alegre: Artmed, 7 ed.,2010, 908p.

KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M.L.; MELLO, J. C. P. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 30, n. 3, p.241-248, 2009.

KOSTER. R, ANDERSON M, De Beer EJ 1959. **Acetic acid for analgesic screening.** *Fed Proc* 18: 412-416.

PARRA, A. L; YHEBRA, R. S; SARDIÑAS, I.G; BUELA, L.I. **Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts .** *Phytomedicine.*, v. 8(5), p. 395-400, 2001.

PRANCE, G.T., SILVA, M. F. **Árvores de Manaus:** INPA, 1975. 312 p

RAJEH, M.A; KWAN, Y.P; ZAKARIA, Z; LATHA, L.Y; JOTHY, S.L; SASIDHARAN, S. 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. 170-7, 2012.

RAMOS, K. R. L. P. *Avaliação da atividade antidiarreica de *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae) em modelos animais.* 2013. 96f. Dissertação (Mestrado em Farmácia). Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2013.

RASKIN, I.; RIBNICKY, D.M.; KOMARNYTSKY, S.; NEBOJSA, I.; POULEV, A.; BORISJUK, N.; BRINKER, A.; MORENO, D.A.; RIPOLL, C.; YAKOBY, N.; O" NEAL, J.M.; CORNWELL, T.; PASTOR, I.; FRIDLINDER, B. Plants and human health in the twenty-first century. **TRENDS in Biotechnology**, vol 20, p.522-531, 2002.

RAZA, M, Al-Shabanah AO, El-Hadiyah TM, Al-Majed AA 2002. **Effect of prolonged vigabatrin treatment on haematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice.** *Sci Pharm* 70: 135-145

RIEDEL , W.; NEECK , G. Nociception, pain and antinociception: current concepts. **Zeitschrift für Rheumatologie**, v.60, n. 6, p. 404-415, 2001.

ROBBINS L. S; COTRAN S. R. **Patologia.** 7ed.Rio de Janeiro:Elsevier, 2005

SACRAMENTO, C.K.; SOUZA, F.X. de. **Cajá (*Spondias mombin* L.).** Jaboticabal: FUNEP, 2000. 42p. (Frutas Nativas)

SILVA, A. S. B. Avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória de *Mikania lindleyana* dc.: validação do uso na medicina popular. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2011. 109p. Disponível em <http://www3.ufpa.br/ppgcf/arquivos/dissertacoes/dissertacaoAno2011-AndressaSilva.pdf>. Acesso em 11 de abril de 214.

SILVA, G.; Avaliação da letalidade e atividade antimicrobiana de extratos de folhas de *Spondias mombin* aff. *Tuberosa*. **FACIDER Revista Científica**,v.1, n.1, 2012.

SOARES, C. C., MARQUES, T. M., RIGOLIN, G. G., NEIS, E., FRIAÇA, A. M. V., SILVA, A. S., BARRETO, G. S., LOPES, L. Atividade analgésica do extrato da *Pectis jangadensis* (S. Moore). **Rev Bras Farmacogn**, v.19, p.77-81, 2009.

SOEHNLEIN, O.; LINDBOM, L. Phagocyte partnership during the onset and resolution of inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v.10, p.427-439, 2010.

SOUZA, F. X.; INNECO, R.; ARAÚJO, C. A. T. **Métodos de enxertia recomendados para a produção de mudas de cajazeira e de outras frutíferas do gênero spondias**. Embrapa Agroindústria Tropical, 1999. 8p. (Comunicado Técnico, no 37).

SYAHMI, A.R.M.; VIJAYARATHNA, S.; SASIDHARAN, S.; LATHA, L.Y.; KWAN, Y.P.; LAU, Y.L.; SHIN, L.N.; CHEN, Y. Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of *Elaeis guineensis* Jacq., (oil palm leaf) methanol extract. **Molecules**. v.15, p.8111-21. 2010.

TALHOUK, R.S; KARAM, C; FOSTOK, S; EL-JOUNI, W; BARBOUR, E.K. Anti-Inflammatory Bioactivities in Plant Extracts. **Journal of Medicinal Food.**, v.10 n.1, p. 1-10 mar. 2007.

TRANQUILLI, W. J. Fisiologia da dor aguda. In: GREENE, S. A. **Segredos em anestesia veterinária e manejo da dor**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.399-402.

VEIGA-JUNIOR VF 2008. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. *Rev Bras Farmacogn* 18: 308-313.

VENÂNCIO, A. M.; *Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do óleo essencial do Ocimum basilicum L. (manjeriço), em Mus musculus (camundongos)*. 2006. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Sergipe. Núcleo de Pós Graduação em Medicina, 2006.

VENDRÚSCOLO, G.S. & MENTZ, L.A. 2006. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Ser.Bot.*, 61(1-2): 83-103.

VIEIRA, V. M. S. F.; Etnobotânica de plantas medicinais comercializadas em mercado público do nordeste brasileiro. **Universidade Federal do Ceará**, 2008. Disponível em <<http://hdl.handle.net/123456789/4282>> acesso em 01 de abril de 2014.

WALKER, K.; FOX, A. J.; URBAN, L. A. Animal models for pain research. **Molecular Medicine Today**, vol 5, p.319-320, 1999.