



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE**

CLIOMAR ALVES DOS SANTOS

**MECANISMOS DE AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DO
EXTRATO ETANÓLICO DA ENTRECASCA DA**

Caesalpinia pyramidalis

ARACAJU
2015

CLIOMAR ALVES DOS SANTOS

**MECANISMOS DE AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DO
EXTRATO ETANÓLICO DA ENTRECASCA DA
*Caesalpinia pyramidalis***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sara Maria Thomazzi

ARACAJU
2015

CLIOMAR ALVES DOS SANTOS

MECANISMOS DE AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DO

EXTRATO ETANÓLICO DA ENTRECASCA DA

Caesalpinia pyramidalis

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde.

Aprovada em: 06 / 05 / 2015

Orientadora: Sara Maria Thomazzi

1º Examinador: Josimari Melo de Santana

2º Examinador: Enilton Aparecido Camargo

3º Examinador: Jullyana de Souza Siqueira Quintans

4º Examinador: Rosilene Moretti Marçal

PARECER

DEDICATÓRIA

*A Deus,
por me dar absolutamente tudo o
que preciso para continuar a alcançar meus objetivos.*

*Ao meu pequeno núcleo familiar,
Danielle e Dora, vocês são as
pessoas mais importantes na minha vida,
dedico todas as minhas conquistas a vocês,
meus amores.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me amparar nos momentos difíceis, por me encorajar quando a fraqueza batia à porta, por me mostrar o melhor caminho e me suprir em todas as minhas necessidades.

À professora Sara Thomazzi, pela parceria estabelecida, pela confiança em mim depositada, pelos momentos de risadas, pela amizade construída e pelo conhecimento transmitido sempre com profissionalismo.

À minha esposa, Danielle, pelo incentivo, pelo companheirismo, pela ajuda nas correções da tese, pelas boas ideias e pela grandiosa genialidade compartilhada.

À Dora, minha filha, por nascer, por ser incrivelmente amorosa com esse pai babão e apaixonado.

À minha família, com todo carinho aos meus pais, Nego Bá e Socorro, e aos meus irmãos Claudimar e Cammila, a minha sogra Léa, por toda confiança, amor, apoio e energias positivas.

Aos meus companheiros de laboratório, aqueles que ali já passaram e aqueles que ali estão, especialmente a Poly, Ana, Jandson, Renata, Dayanne, pela ajuda, torcida, carinho, bons papos.

Aos amigos que fiz no DTS e aos amigos da pós-graduação, pelos excelentes momentos vividos juntos, especialmente a Alyne, Emilton, Larissa, Mirabeau, Simone.

Ao Núcleo de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, pela atenção dispensada aos alunos, à Izabela e Erica.

Aos técnicos de laboratório da UFS, Sr. Osvaldo e Galego, por estarem sempre à disposição para ajudar.

À UFS, pela disponibilização do espaço e toda sua infraestrutura para pesquisa e por manter as condições básicas para sua realização.

Ao CNPQ, pelo apoio financeiro.

Aos camundongos, que mesmo involuntariamente, contribuíram com sua vida para a ciência.

Não se satisfaça apenas em cumprir sua obrigação.

Faça mais que sua obrigação.

É o cavalo que termina com uma cabeça à frente que vence a corrida.

Andrew Carnegie

RESUMO

SANTOS, Cliomar Alves. Mecanismos de ação antinociceptiva do extrato etanólico da entrecasca da *Caesalpinia pyramidalis*. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) UFS/SE, Aracaju, 2015. A dor representa um dos principais problemas de saúde, levando a população a uma busca constante por tratamento. Um *screening* farmacológico mostrou que o extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* reduz o comportamento de nocicepção nos testes de contorções abdominais, formalina e placa quente em camundongos. Com o objetivo de avaliar o mecanismo de ação do EE da *C. pyramidalis*, substrato, antagonistas ou inibidores de diferentes vias envolvidas na nocicepção foram utilizados no modelo de contorções abdominais. Para a escolha da dose, camundongos (n = 6/grupo) foram tratados por via oral com EE da *C. pyramidalis* (10, 30 ou 100 mg/kg), veículo (Tween 80 a 0,2% em salina, 10 mL/kg) ou ácido acetilsalicílico (AAS, 300 mg/kg) 1 hora antes da administração do ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g, i.p.). Posteriormente, diferentes grupos de animais receberam pré-tratamento por via intraperitoneal com L-arginina (precursor do NO, 600 mg/kg, 15 min), azul de metileno (inibidor da via NO/GMPc, 20 mg/kg, 15 min), glibenclamida (inibidor de canais K^+_{ATP} , 3 mg/kg, 15 min), atropina (antagonista de receptores colinérgico-muscarínico, 0,1 mg/kg, 15 min), prazosina (antagonista de α_1 -adrenoceptores, 0,15 mg/kg, 15 min), ioimbina (antagonista de α_2 -adrenoceptores, 0,15 mg/kg, 15 min), haloperidol (antagonista de receptores dopaminérgicos, 2 mg/kg, 15 min), cafeína (antagonista de receptores adenosinérgicos, 3 mg/kg, 15 min), flumazenil (antagonista de receptores gabaérgicos, 3 mg/kg, 15 min) ou reserpina (inibidor da recaptação de monoaminas, 5 mg/kg, 24 h), e foram tratados com o EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.), veículo (v.o.), L-NOARG (inibidor da NOS, 75 mg/kg, i.p.), acetilcolina (agonista de receptores muscarínicos, 1 mg/kg, i.p.), fenilefrina (agonista de α_1 -adrenoceptores, 1 mg/kg, i.p.), clonidina (agonista de α_2 -adrenoceptores, 0,1 mg/kg, i.p.), adenosina (agonista de receptores adenosinérgicos, 100 mg/kg, i.p.), diazepam (agonista de receptores gabaérgicos, 1,5 mg/kg, i.p.) ou clomipramina (inibidor da recaptação neuronal de monoaminas, 10 mg/kg, i.p.). Sessenta min após os diferentes tratamentos realizou-se o teste das contorções abdominais. Outros grupos de animais, 60 min antes da injeção da capsaicina ou glutamato, receberam a administração de veículo, doses de 10, 30 ou 100 mg/kg do EE da *C. pyramidalis* e, 30 min antes, receberam a administração da morfina (3 mg/kg) afim de serem submetidos aos testes da capsaicina (20 μ L, 1,6 μ g/pata) ou glutamato (20 μ L, 20 μ mol/pata). Todos os controles do experimento funcionaram conforme ação farmacológica esperada, observando-se as respectivas reversões do efeito antinociceptivo, ao se comparar os animais que receberam os diferentes tratamentos com as drogas utilizadas. O número de contorções abdominais foi significativamente menor quando os animais receberam as doses de 30 e 100 mg/kg ($p < 0,001$), de maneira dose-dependente, quando comparadas às observadas nos animais que receberam veículo, escolhendo-se a dose de 30 mg/kg (v.o.) para este estudo. Houve reversão do efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis* quando os animais receberam pré-tratamento com L-arginina ($P < 0,001$), azul de metileno ($P < 0,05$), glibenclamida ($P < 0,001$), atropina ($P < 0,001$), ioimbina ($P < 0,05$) e flumazenil ($P < 0,001$), e a reversão não foi observada quando administrados prazosina, haloperidol, reserpina e cafeína. Observou-se uma redução do tempo lambida/mordida na dose de 100 mg/kg no teste da capsaicina ($P < 0,05$) e em todas as doses no teste do glutamato ($P < 0,01$). Conclui-se que o EE da *C. pyramidalis* apresenta seu efeito antinociceptivo, agindo de maneira sinérgica nas vias dos sistemas L-arginina/NO, NO/GMPc, canais de K^+ sensíveis ao ATP, colinérgico-muscarínico, α_2 -

adrenérgico e gabaérgico, além de envolver a participação do glutamato e capsaicina neste efeito antinociceptivo.

Palavras-chave: nocicepção; dor; farmacologia; produtos naturais; plantas medicinais; *Caesalpinia pyramidalis*.

ABSTRACT

SANTOS, Cliomar Alves. Antinociceptive mechanisms of action of the ethanol extract of *Caesalpinia pyramidalis* inner bark. Thesis (Doctorate in Health Sciences) UFS/SE, Aracaju, 2015. Pain is one of the major health problems, leading people to search for treatment. A pharmacological screening showed that the *Caesalpinia pyramidalis* ethanol extract (EE) reduces nociception behavior in the writhing, formalin, and hot plate tests in mice. In order to assess the mechanism of action of EE of *C. pyramidalis*, substrate, antagonists or inhibitors of different pathways involved in nociception were used in the writhing model. To select the dose, mice (n = 6 per group) were pretreated with EE of *C. pyramidalis* (10, 30, or 100 mg/kg, p.o.) vehicle (Tween 80, 0.2% in saline, 10 mL/kg, p.o.) or acetylsalicylic acid (ASA, 300 mg/kg, p.o.) 1 hour before the administration of acetic acid (0.6%, 0.1 mL/10 g, i.p.). Subsequently, different groups of animals were pretreated, intraperitoneally, with L-arginine (NO precursor, 600 mg/kg, 15 min), methylene blue (NO/cGMP, way inhibitor, 20 mg/kg, 15 min), glibenclamide (K⁺-ATP channels inhibitor, 3 mg/kg, 15 min), atropine (muscarinic-cholinergic receptors antagonist, 0.1 mg/kg, 15 min), prazosina (α 1-adrenoceptor antagonist, 0.15 mg/kg, 15 min), yohimbine (α 2-adrenoceptor antagonist, 0.15 mg/kg, 15 min), haloperidol (dopaminergic receptors antagonist, 2 mg/kg, 15 min), caffeine (adenosinergic receptors antagonist, 3 mg/kg, 15 min), flumazenil (gabaergic receptors antagonist, 3 mg/kg, 15 min) or, reserpine (inhibitor of monoamine receiving, 5 mg/kg, 24 h), and were treated with EE of *C. pyramidalis* (30 mg/kg, p.o.), vehicle (p.o.), L-NOARG (NOS inhibitor, 75 mg/kg, i.p.), acetylcholine (muscarinic receptor agonist, 1 mg/kg, i.p.), phenylephrine (α 1-adrenoceptor agonist, 1 mg/kg, i.p.), clonidine (α 2-adrenoceptor agonist, 0.1 mg/kg, i.p.), adenosine (adenosinergic receptors agonist, 100 mg/kg, i.p.), diazepam (gabaergic receptors agonist, 1.5 mg/kg, i.p.) or, clomipramine (neuronal receiving monoamines inhibitor, 10 mg/kg, i.p.). Sixty min after the different treatments writhing was conducted. Besides, another animal groups, 60 min before the administration of vehicle, doses of 10, 30, or 100 mg/kg of the EE of *C. pyramidalis* and 30 min before administration of the received morphine (3 mg/kg, i.p.) in order to be subjected to testing of capsaicin (20 μ L, 1.6 mg/paw) or glutamate (20 μ L, 20 μ mol/paw). All experimental controls functioned as expected pharmacological action, observing their reversals of the analgesic effect, when comparing with animals that received different treatments with the drugs used. The number of writhes was lower when received the EE from *C. pyramidalis* in the doses of 30 and 100 mg/kg ($P < 0.001$), in a dose-dependent manner, when was compared with the animals that received vehicle, choosing the dose of 30 mg/kg (p.o.) to this study. There was a reversal of the antinociceptive effect of the EE *C. pyramidalis* action when the animals were pretreated with L-arginine ($P < 0.001$), methylene blue ($P < 0.05$), glibenclamide ($P < 0.001$), atropine ($P < 0.001$), yohimbine ($P < 0.05$), and flumazenil ($P < 0.001$) and the reversion was not observed when administered prazosin, haloperidol, reserpine, and caffeine. The results showed, that the animals reduced the licking/biting time at the dose of 100 mg/kg in the capsaicin test ($P < 0.05$) and in all doses in the glutamate test ($P < 0.01$). Concludes that the EE of *C. pyramidalis* presents its antinociceptive effect, acting synergistically in pathways of L-arginine/NO, NO/cGMP, K⁺ channel-ATP sensitive, muscarinic cholinergic, α 2-adrenergic and GABAergic, and involve the participation of glutamate and capsaicin in the antinociceptive effect.

Keywords: nociception; pain; pharmacology; natural products; medicinal plants; *Caesalpinia pyramidalis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Vias espinhal e supraespinhal da dor.	25
Figura 2: Hábito de <i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul. (Fabaceae).	32
Figura 3: Linha do tempo referente ao teste das contorções abdominais para escolha de doses.	36
Figura 4: Linha do tempo referente ao estudo da participação L-arginina/óxido nítrico	36
Figura 5: Linha do tempo referente ao estudo da participação do monofosfato de guanosina cíclico.....	37
Figura 6: Linha do tempo referente ao estudo da participação dos canais de K ⁺ sensíveis ao ATP.	38
Figura 7: Linha do tempo referente ao estudo da participação colinérgico-muscarínica	38
Figura 8: Linha do tempo referente ao estudo da participação dos α_1 -adrenorreceptores	39
Figura 9: Linha do tempo referente ao estudo da participação dos α_2 -adrenorreceptores	39
Figura 10: Linha do tempo referente ao estudo da participação dos receptores dopaminérgicos.....	40
Figura 11: Linha do tempo referente a participação dos estoques endógenos de aminas bioativas.	41
Figura 12: Linha do tempo referente ao estudo da participação do sistema adenosinérgico.....	41
Figura 13: Linha do tempo referente ao estudo da participação dos receptores gabaérgicos.....	42
Figura 14: Linha do tempo referente ao estudo da nocicepção induzida por capsaicina....	42
Figura 15: Linha do tempo referente ao estudo da nocicepção induzida pelo glutamato ...	43
Figura 16: Número de contorções abdominais promovidas pelo ácido acético em camundongos.....	44
Figura 17: Número de contorções abdominais na investigação da participação do sistema L-arginina/óxido nítrico no efeito antinociceptivo do EE da <i>C. pyramidalis</i>	45

Figura 18: Número de contorções abdominais na investigação da via óxido nítrico/GMPc no efeito antinociceptivo do EE da <i>C. pyramidalis</i>	46
Figura 19: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos canais de K ⁺ sensíveis ao ATP no efeito antinociceptivo do EE da <i>C. pyramidalis</i>	47
Figura 20: Número de contorções abdominais na investigação da participação do sistema colinérgico muscarínico no efeito antinociceptivo do EE da <i>C. pyramidalis</i>	48
Figura 21: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos α_1 -adrenoceptores no efeito antinociceptivo do EE da <i>C. pyramidalis</i>	49
Figura 22: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos α_2 -adrenoceptores no efeito antinociceptivo do EE da <i>C. pyramidalis</i>	50
Figura 23: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos receptores dopaminérgicos no efeito antinociceptivo do EE da <i>C. pyramidalis</i>	51
Figura 24: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos estoques endógenos de aminas bioativas no efeito antinociceptivo do EE da <i>C. pyramidalis</i>	52
Figura 25: Número de contorções na investigação da participação dos receptores adenosinérgicos no efeito antinociceptivo do EE da <i>C. pyramidalis</i>	53
Figura 26: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos receptores gabaérgicos no efeito antinociceptivo do EE da <i>C. pyramidalis</i>	54
Figura 27: Efeito do EE da <i>C. pyramidalis</i> na nocicepção induzida por capsaicina.	55
Figura 28: Efeito do EE da <i>C. pyramidalis</i> na nocicepção induzida por glutamato.....	56
Figura 29: Níveis de glicemia em camundongos submetidos ao teste das contorções abdominais na investigação da participação dos canais de K ⁺ sensíveis ao ATP no efeito antinociceptivo do EE da <i>C. pyramidalis</i>	57

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Resumo dos efeitos do extrato etanólico da <i>Caesalpinia pyramidalis</i> na investigação do mecanismo de ação antinociceptiva	58
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	5-hidroxitriptamina ou serotonina
AAS	ácido acetilsalicílico
AINE	anti-inflamatório não-esteroidal
AMP	adenosina monofosfato
AMPA	α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato
ANOVA	análise de variância
ATP	trifosfato de adenosina
BK	Bradicinina
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
CGRP	peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
COX	ciclo-oxigenase
DPPH	2,2-difenil-1,1-picrilidrazil
EE	extrato etanólico
FCN	fator de crescimento neuronal
FIC	quelação de íons ferroso
GABA	ácido gama aminobutírico
GMP	guanosina monofosfato
i.p.	Intraperitoneal
IL	Interleucina
L-NOARG	L-NG-nitroarginina
LOX	Lipoxigenase
LT	Leucotrieno
MDA	Malondialdeído
NMDA	N-metil-D-aspartato
NA	Noradrenalina
NADH	nicotinamida adenina dinucleótido
NGF	fator de crescimento do nervo
NK	Neurocininas
NO	óxido nítrico
NOS	óxido nítrico sintase
PAF	fator de agregação plaquetária
P2X	Purinoceptores
PG	prostaglandina
PGI	Prostaciclina
PC	proteína quinase
PL	Fosfolipase
RPT	receptores de potenciais transitórios
RV1	receptores vanilóides

SBCAL	Sociedade Brasileira de Cuidados com Animais de Laboratório
SNC	sistema nervoso central
sGC	guanilato ciclase solúvel
SP	substância P
TNF	fator de necrose tumoral
TX	Tromboxano
v.o.	via oral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo Geral	19
2.2 Objetivos Específicos.....	19
3 REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1 Dor	20
3.2 Vias envolvidas na modulação da dor.....	24
3.3 Tratamento para a dor	28
3.4 Produtos naturais e <i>Caesalpinia pyramidalis</i>	30
4 MÉTODOS.....	34
4.1 Planta (coleta e identificação).....	34
4.2 Preparação do extrato etanólico	34
4.3 Animais	34
4.4 Teste de contorções abdominais	35
4.4.1 Escolha da dose	35
4.4.2 Participação do sistema L-arginina/óxido nítrico	36
4.4.3 Participação da via do monofosfato de guanosina cíclico (GMPC)	37
4.4.4 Participação dos canais de K ⁺ sensíveis ao ATP	37
4.4.5 Participação do sistema colinérgico-muscarínico.....	38
4.4.6 Participação de α_1 -adrenoceptores	38
4.4.7 Participação de α_2 -adrenoceptores.....	39
4.4.8 Participação dos receptores dopaminérgicos.....	40
4.4.9 Participação dos estoques endógenos de aminas bioativas	40
4.4.10 Participação do sistema adenosinérgico	41
4.4.11 Participação do sistema gabaérgico	41
4.5 Teste da nocicepção induzida por capsaicina	42
4.6 Teste da nocicepção induzida por glutamato.....	43
4.7 Determinação dos níveis de glicemia.....	43
4.8 Análise estatística	43
5 RESULTADOS	44

5.1 Teste de contorções abdominais	44
5.1.1 Participação do sistema L-arginina/óxido nítrico	44
5.1.3 Participação da via óxido nítrico/GMPc	45
5.1.4 Participação dos canais de K ⁺ sensíveis ao ATP	46
5.1.5 Participação do sistema colinérgico-muscarínico.....	47
5.1.6 Participação dos α_1 -adrenoceptores	48
5.1.7 Participação dos α_2 -adrenoceptores	49
5.1.8 Participação dos receptores dopaminérgicos.....	50
5.1.9 Participação dos estoques endógenos de aminas bioativas	51
5.1.10 Participação dos receptores adenosinérgicos.....	52
5.1.11 Participação dos receptores gabaérgicos	53
5.2 Teste da capsaicina	54
5.3 Teste do glutamato.....	55
5.4 Determinação dos níveis de glicemia.....	56
5.4 Sumário dos resultados obtidos com os tratamentos	57
6 DISCUSSÃO	59
7 CONCLUSÃO	69
8 REFERÊNCIAS.....	70
9 ANEXOS	96

1 INTRODUÇÃO

A dor, segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP, 1979; MERKSEY, 1996), é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a um dano tecidual potencial e/ou de fato. A dor é um resultado subjetivo da nocicepção, a qual é definida como processos neurais de codificação e processamento do estímulo nocivo (SCHAIBLE; RICHTER, 2004; LOESER; TREEDE, 2008). O seu papel fisiológico serve como um alarme a fim de proteger o organismo ativando reações e induzindo comportamentos de precaução que podem diminuir a ação do agente causal, limitando os danos provocados (HIRSH; GEORGE; ROBINSON, 2009).

Diversas são as situações em que a dor pode se manifestar, como resposta de aviso para fins de sobrevivência ou como resultado de mudanças patológicas do sistema nervoso central, podendo levar milhões de pacientes, anualmente, a situações de sofrimento (SMITH; TORRANCE, 2012). Um estudo europeu estima que a prevalência da dor na população geral seja 30%, com um decréscimo na qualidade de vida destes pacientes (HAANPÄÄ; TREEDE, 2010). A sua prevalência aumenta com a idade, observando-se uma tendência de aumento até os 60-65 anos, voltando a níveis mais baixos em idades posteriores; além disso, está associada positivamente ao sexo feminino e ao nível de escolaridade mais baixo (TOTH; LANDER; WIEBE, 2009; KONG et al., 2010).

O impacto econômico gerado pela ausência ao trabalho por motivos de queixas de dores e a diminuição de casos de retorno laboral em condições sadias são aspectos que são levados em consideração no estudo de Henschke, Kamper e Maher (2015), que destacam uma ausência ao trabalho de 8 – 10 dias por semestre em trabalhadores que sofrem de dor crônica moderada a grave, casos em que pode haver sequelas, as quais estão intimamente associadas à redução da funcionalidade física nesta população (PATEL et al., 2013). O Instituto Nacional de Seguridade Social mostrou, em recente estudo, que a dorsalgia é responsável por 7,06% das ausências por motivos de saúde no ambiente de trabalho, sendo a principal causa de afastamento laboral no país (BRASIL, 2014).

Os tratamentos convencionais, com o uso de anti-inflamatórios não esteroidais e opióides, apresentam efeitos indesejados como gastrite e depressão imunológica, respectivamente, além de serem ineficazes para cobrir todo o amplo espectro de

condições dolorosas, havendo necessidade de novas alternativas para tratar a dor de forma efetiva e com menos efeitos colaterais. Aliadas a esta necessidade, estão a riqueza da flora brasileira e a importância do conhecimento localmente construído pelas populações rurais no âmbito da medicina tradicional acerca da etnobotânica das plantas medicinais e da sua importância nos seus sistemas de saúde e doença.

Nesse sentido, as plantas medicinais e/ou os produtos isolados derivados de plantas têm despertado crescente interesse científico (GREGORY et al., 2013). No Brasil, a inserção da fitoterapia no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) foi estimulada a partir da aprovação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (BRASIL, 2006a) e da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (BRASIL, 2006b), que visam a valorização da medicina tradicional das populações e a conscientização dos profissionais de saúde para o uso das plantas medicinais e dos fitoterápicos na atenção básica no sistema público.

Entre as plantas tradicionalmente utilizadas pela população para tratamento de inflamação de modo geral, encontra-se a *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabaceae), preparada popularmente na forma de decocto, infusão ou garrafada para o tratamento de condições inflamatórias e dolorosas (AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007), a qual foi estudada pelo nosso grupo de pesquisa, mostrando que o extrato etanólico (EE) da *C. pyramidalis* é efetivo para diminuir o processo inflamatório e doloroso em testes de *screening* farmacológico, como o edema de patas em ratos, peritonite, testes de contorções, da formalina e da placa quente em camundongos (SANTOS et al., 2011), bem como a inflamação pancreática e pulmonar e a dor abdominal na pancreatite aguda (SANTANA et al., 2012), a inflamação da bexiga em modelo de cistite (MORAES et al., 2013), além de promover efeito gastroprotetor (RIBEIRO et al., 2013; DINIZ et al., 2015).

Do ponto de vista do atendimento de saúde, é prioritário conhecer os mecanismos da dor juntamente com as doenças que a causam, bem como, aumentar a gama de possibilidades no tratamento do paciente, particularmente quando esta é persistente, crônica, ou ainda refratária a tratamentos. Assim, este trabalho teve como intenção preencher a lacuna do conhecimento em relação à atividade antinociceptiva do EE da *C. pyramidalis* e investigar possíveis mecanismos de ação pelo qual o extrato exerce seu efeito em animais, para contribuir, com embasamento científico, com o uso popular e fornecer dados preliminares para o desenvolvimento de fármacos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar mecanismos envolvidos na antinocicepção causada pelo extrato etanólico (EE) da entrecasca da *Caesalpinia pyramidalis*.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a participação dos seguintes sistemas na antinocicepção pelo EE da *C. pyramidalis*:

- ✓ via L-arginina/óxido nítrico (NO);
- ✓ via guanosina monofosfato cíclico (GMPc)/NO;
- ✓ canais de K⁺ sensíveis à ATP;
- ✓ receptores muscarínicos;
- ✓ α_1 - e α_2 -adrenorreceptores;
- ✓ receptores dopaminérgicos;
- ✓ aminas bioativas endógenas;
- ✓ receptores adenosinérgicos;
- ✓ receptores gabaérgicos;
- ✓ receptores glutamatérgicos;
- ✓ receptores vanilóides.

- Determinação dos níveis de glicemia.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Dor

A experiência da dor é uma entidade complexa que envolve dimensões sensoriais, afetivas, motivacionais e cognitivas (ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004). Existe uma diferença entre os termos nocicepção e dor; o primeiro se refere a manifestações neurofisiológicas geradas pelo estímulo nocivo, enquanto o segundo envolve a percepção de um estímulo aversivo que requer a capacidade de abstração e elaboração de impulsos sensoriais (MILLAN, 1999; MOAYEDI; DAVIS, 2013).

Para Almeida, Roizenblatt e Tufik (2004) as manifestações de dor podem ser entendidas com base nos substratos neurais que medeiam as funções sensoriais e afetivas; enquanto o sistema sensorial percebe e permite a localização espaço-temporal, a qualificação física e a intensidade do estímulo nocivo, o componente cognitivo-afetivo atribui emoções à experiência, sendo responsável pelas respostas comportamentais à dor.

Outra diferença importante a ser mencionada é a existente entre hipernocicepção e hiperalgesia. Na hipernocicepção ocorre lesão tecidual, ou seja, a sensibilização dos nociceptores (PANDURANGAM et al., 2014), enquanto que a hiperalgesia primária é caracterizada pela acentuação da dor no local da lesão diante de estímulos mecânicos, térmicos e a fenômenos relacionados à sensibilização periférica (VECCHIO et al., 2014) e a hiperalgesia secundária, quando ocorre nas regiões circunvizinhas, envolvendo sensibilização central e sendo caracterizada por um aumento da resposta a estímulos mecânicos (TREEDE, MARGERL, 2000). A alodínia é a resposta dolorosa a estímulos mecânicos não nocivos e hiperestesia trata-se da sensibilidade anormal a estímulos sensoriais (ROHRS et al., 2015).

A dor pode ser classificada levando-se em consideração alguns parâmetros como duração, se fisiológica ou não e a localização central ou periférica. No que se refere à duração, pode ser classificada como aguda ou crônica: a primeira é caracterizada por ser pontual, delimitada e desaparecer com a resolução do processo patológico, e a segunda persiste por um longo período de tempo, sendo associada a processos patológicos crônicos e mudanças no padrão de transmissão neuronal (ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004).

Um dos sinais clássicos do processo inflamatório, em que a sensibilização dos nociceptores é o denominador comum, a dor mostra-se mais persistente durante a lesão tecidual e a inflamação (GREGORY et al., 2013). Esta sensibilização causa hiperalgesia ou alodínia em humanos, fenômenos que envolvem a percepção da dor, e é mais bem descrita como hipernocicepção em modelos animais (VERRI-JUNIOR et al., 2006; CUNHA et al., 2008).

A propagação da dor se inicia com a ativação dos receptores fisiológicos, chamados de nociceptores, amplamente encontrados em mucosas, pele, membranas, fâscias profundas, tecidos de conexão de órgãos viscerais, ligamentos e articulações, periósteo, músculos e tendões. Os receptores correspondem às terminações livres dos nervos e representam a parte mais distal de neurônios aferentes primários, que consistem em fibras de pequeno diâmetro, as fibras dos tipos A δ e C (MENSE, 1983; PERL, 2011), responsáveis pela nocicepção. As fibras C não são mielinizadas, possuem baixa velocidade de condução (<1 m/s) e respondem a estímulos nocivos de origem térmica, mecânica ou química. As fibras A δ são mielinizadas, apresentam velocidade de condução de 5-30 m/s e respondem a estímulos térmicos e mecânicos (JULIUS; BASBAUM, 2001). As fibras C contêm neuropeptídios [substância P (SP) e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP)] (BASBAUM et al., 2009). As fibras peptidérgicas C são responsáveis pela estimulação nociva química como capsaicina e prótons (FERNÁNDEZ-DUEÑAS et al., 2010).

As vias nervosas aferentes primárias têm o corpo celular localizado nos gânglios sensitivos, de onde fibras emergentes seguem curso glomerular e dividem-se em ramos proximais e distais (WILLIS, 1989). Cerca de 40 a 75% dos neurônios ganglionares são imunorreativos ao glutamato e apresentam colocalização da SP com o CGRP. Os neurônios dos gânglios sensitivos contêm uma pequena quantidade de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH)-diapórese e óxido nítrico sintase (NOS). Os receptores de opióides μ , δ e κ estão presentes em alguns neurônios da raiz sensitiva, e há aumento da densidade de receptores μ e redução da proporção de receptores δ e κ quando ocorre inflamação (BROTON; ROSENFELD, 1982).

Vários mediadores inflamatórios estão envolvidos com a dor, como a bradicinina (BK), prostaglandina (PG) E₂, prostaciclina (PGI₂), leucotrieno (LT) B₄, ácido (8R,15S)-di-hidroxi-icosa-(5E-9,11,13Z) tetraenóico (8R,15S-diHETE), 5-hidroxitriptamina (5-HT), adenosina (receptor A1), histamina, interleucina (IL)-1, IL-8, IL-15, IL-18, fator de agregação plaquetária (PAF), fator de crescimento do nervo

(NGF), fator de necrose tumoral (TNF)- α , K^+ , H^+ , adenosina trifosfato (ATP), óxido nítrico (NO), neurotrofinas, neuropeptídeos [neurocinina (NK) A, SP e CGRP e aminas simpáticas, os quais podem agir de modo sinérgico (KIDD; URBAN, 2001; WOJDASIEWICZ; PONIATOWSKI; SZUKIEWICZ, 2014).

A maioria destes mediadores age através da ativação de receptores acoplados à proteína G, fosforilando canais iônicos, via ativação das proteínas quinases (PK) A e C. Podem atuar ativando diretamente o nociceptor (histamina e SP), induzindo dor espontânea, ou sensibilizando os nociceptores, provocando hiperalgesia (citocinas, 5-HT e PGE_2) (RIEDEL; NEECK, 2001). A bradicinina pode ativar direta ou indiretamente os nociceptores, acarretando dor e/ou ainda sensibilização periférica a qual envolve a liberação de outros mediadores como as aminas biogênicas, neuropeptídeos e a geração de ácido araquidônico e prostanóides (DRAY; PERKINS, 1993).

Uma variedade de citocinas está envolvida na dor induzida por inflamação, bem como na dor neuropática mediada pela medula. Os mecanismos envolvidos incluem a liberação de eicosanóides de vários tecidos, o aumento da expressão de receptores para o NGF e cininas ou ativação de fibras simpáticas (ARRUDA et al., 2000; MILLIGAN et al., 2001). Além disso, tem sido proposto que o TNF e a IL-1 β têm papel relevante para indução e manutenção de estados hipernociceptivos por meio da regulação da síntese de IL-6 (SWEITZER; MARTIN; DELEO, 2001). É importante salientar que a IL-1 β é capaz de aumentar a síntese de ciclo-oxigenase (COX)-2 no sistema nervoso central (SNC), contribuindo para fenômenos hipernociceptivos (SAMAD et al., 2001).

Os chamados receptores de capsaicina são membros da família dos receptores de potenciais transitórios vanilóides (TRPV1), originalmente chamados de receptores vanilóides (VR1). Os TRPV1 são polimodais por abrirem canais de cátions permeáveis ao Ca^{2+} , radicais H^+ e lipídeos, sendo também sensíveis ao calor ($\geq 43^\circ C$) e a compostos vanilóides (capsaicina e resiniferatoxina) (CATERINA et al., 1997; TOMINAGA et al., 1998; PERL, 2011). Desde então, tem sido reportado que os TRPV1 são ativados pela cânfora, alicina, NO, toxinas de aranha e mediadores lipídicos como os endovanilóides (anandamina) e produtos da lipoxigenase (como o LTB₄); potencializado por etanol, nicotina e citocinas pró-inflamatórias (HWANG et al., 2000; TREVISANI et al., 2002; LIU et al., 2004; AHERN et al., 2005; MACPHERSON et al., 2006; SIEMENS et al., 2006; YOSHIDA et al., 2006). Além disso, estudos *in vitro* e *in vivo* utilizando diferentes mediadores inflamatórios como BK, glutamato, PGE_2 ou NGF são capazes de

sensibilizar e estimular os TRPV1 indiretamente através da ativação da fosfolipase (PL) C, com consequente ativação da PKC ou PLA₂ (CHUANG et al., 2001; HU, BHAVE, GEREAU, 2002; FERREIRA; DA SILVA; CALIXTO, 2004).

As células infiltradas podem liberar inúmeras substâncias algogênicas como íons (radicais ácidos), peptídeos (acetilcolina), bradicinina, 5-HT, histamina, LT, SP, PG, fatores de crescimento, IL-1 β , IL-6, IL-8 e adenosina-3'-5'- monofosfato cíclico (AMPC) (BROTON; ROSENFELD, 1982; NASHOLD JR, 1988). A PLA₂ induz hiperalgesia mecânica, aumentando o AMPC e diminuindo o limiar dos receptores polimodais (CAMARGO et al., 2011).

A PGE₂, a 5-HT e a adenosina ativam a PKA enquanto o NGF, a BK e a adrenalina ativam a PKA e a PKC-Y (STEEDS, 2009). A 5-HT e os prostanóides pró-inflamatórios, como a PGE₂, podem contribuir para a sensibilização periférica, pois se ligam ao receptor acoplado à proteína G que ativa as vias sinalizadoras ativadas pela adenilato ciclase (SERPELL, 2005). Os neurônios sensitivos também expressam receptores acoplados à proteína G que podem agir nesse processo de sensibilização, inibindo a adenilato ciclase, mecanismo que possivelmente contribui para os efeitos analgésicos dos opióides sintéticos e dos canabinóides (PINHEIRO et al., 2014).

Diversos estudos revelam um efeito antinociceptivo decorrente da ativação de receptores A₁ de adenosina em virtude da inibição da enzima adenilato ciclase. Esta inibição diminui a produção de AMPC, a qual encontra-se elevada perante a hipernocicepção devido ao fato de o AMPC ser um segundo mensageiro que atua na redução do limiar nociceptivo e no aumento da excitabilidade da membrana neuronal (SOSNOWSKI et al., 1989; KARLSTEN et al., 1991; TAIWO; LEVINE, 1991; KARLSTEN; GORDH, 1995; KHASAR et al., 1995; SAWYNOK et al., 1998). O estudo de Malhotra et al. (2000) relacionou a ativação de receptores A₁ de adenosina pela adenosina e por agonistas seletivos a uma atividade anti-hipernociceptiva decorrente da interação entre o sistema adenosinérgico e o sistema dopaminérgico.

Os purinoceptores (P2X) são canais ionotrópicos que medeiam a transmissão sináptica rápida induzida pela ATP extracelular; também são receptores metabotrópicos acoplados à proteína G na medula espinhal que medeiam pré-sinápticamente a transmissão excitatória rápida. Os receptores P2X₃ são ativados por tensão mecânica, calor ou injeção tecidual de formalina (BURNSTOCK, 2005).

O glutamato, um dos principais neurotransmissores excitatórios, despolariza neurônios sensitivos e abre os canais iônicos, gerando inflamação e hiperalgesia (PERL,

2011). Pode despolarizar os neurônios sensitivos diretamente, ativando os receptores de 5HT-3 do canal excitatório da superfamília dos receptores nicotínicos da acetilcolina (ANJANEYULU; CHOPRA, 2006). Várias substâncias inflamatórias alteram a excitabilidade neuronal, pois interagem diretamente com os receptores ionotrópicos por serem agonistas de canais ou moduladores alostéricos positivos (BAHLLA et al., 2013). Os neurônios sensoriais primários utilizam o aminoácido L-glutamato como seu principal neurotransmissor excitatório e quando liberado na sinapse atua em receptores glutamatérgicos ionotrópicos do tipo α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato (AMPA), cainato e N-metil-D-aspartato (NMDA) pós-sinápticos e em receptores glutamatérgicos acoplados a proteína G (ZEILHOFER, 2005). Nesta sinapse, além do glutamato, ocorre a liberação de outros moduladores sinápticos como a SP, a NKA e o CGRP (SCHAIBLE; RICHTER, 2004).

Quando ocorre dor, a SP, a NKA, a NKB e o CGRP, dentre outros neurotransmissores, são liberados nos tecidos pelas terminações nervosas dos aferentes nociceptivos e atraem ou ativam os elementos celulares envolvidos no processo inflamatório (neutrófilos, linfócitos, plasmócitos, macrófagos) ou regenerativo (fibroblastos, células de Schwann), o que gera a vasodilatação e o processo inflamatório de origem neurogênica (inflamação neurogênica) (PIA, 1987; SACERDOTE; LEVRINI, 2012).

3.2 Vias envolvidas na modulação da dor

É a nível medular, mais precisamente no corno posterior da medula (Figura 1), que os estímulos nociceptivos sofrem influxos inibitórios por um mecanismo auto-perpetuante que leva à dissipação da hiperalgesia (ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004).

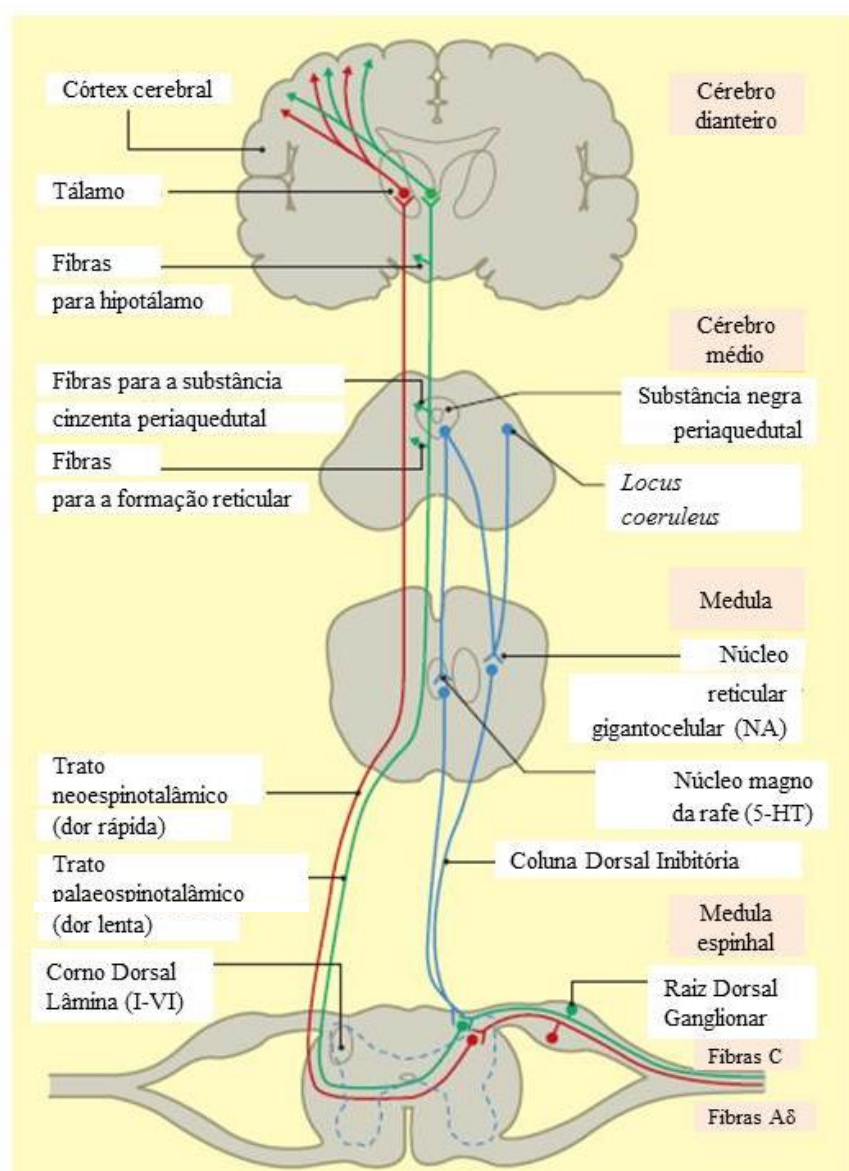


Figura 1: Vias espinhal e supraespinhal da dor. Adaptada e traduzida de: Serpel, 2005. NA: noradrenalina; 5-HT: 5-hidroxitriptamina ou serotonina. Vias ascendentes rápidas (vermelho) e lentas (verde) da dor. Trato inibitório descendente (azul).

A via descendente analgésica é composta por substância cinzenta periaquedutal mesencefálica que apresenta células com projeções descendentes que se dirigem ao tronco cerebral e a medula espinhal. A maioria das fibras faz sinapse com os núcleos do bulbo, especialmente o núcleo magno da rafe. Os neurônios da rafe por sua vez projetam-se na medula espinhal onde inibem as respostas nociceptivas dos neurônios da coluna dorsal. Estes neurônios descendentes podem, potencialmente, fechar o fluxo da informação nociceptiva a partir do nível da primeira sinapse na coluna dorsal (STEIN, 2004; LAMONT; TRANQUILLI, 2000).

O bloqueio é produzido pela estimulação de vias descendentes que inibem os neurônios nociceptivos na medula espinhal, através de conexões excitatórias com neurônios serotoninérgicos e noradrenérgicos, que por sua vez descem até o corno dorsal da medula onde realizam conexões inibitórias com neurônios das lâminas I, II e V (MORGADO et al., 2011).

Essas projeções descendentes originadas no tronco encefálico podem inibir a descarga de neurônios nociceptivos de projeção, atuando diretamente sobre eles, por inibição de interneurônios excitatórios ou por estimulação de interneurônios inibitórios. Além disso, estabelecem sinapses com terminais de aferentes primários reduzindo a liberação de glutamato, aspartato e CGRP. Além de sua ação medular, os peptídeos opióides participam da ativação dos sistemas de inibição descendentes. A substância cinzenta periaquedutal contém uma grande quantidade de receptores μ . Os peptídeos opióides inibem a descarga dos neurônios GABAérgicos inibitórios, ativando as vias descendentes (DREWES, 2006; HAMURTEKIN; BAGDAS; GURUN, 2007).

A substância cinzenta periaquedutal, a rafe bulbar e o corno dorsal da medula espinhal apresentam uma grande quantidade de peptídeos opióides endógenos e de receptores opióides. Altas densidades destes receptores são encontradas também, nas porções mediais do tálamo e no prosencéfalo límbico (LI et al., 2007).

O trato espinotalâmico parece ramificar-se em direção mediana e rostral estabelecendo sinapses com regiões nucleares complexas incluindo o núcleo magno da rafe e os núcleos reticulares gigantocelulares, ambos os quais estão envolvidos em uma regulação descendente da atividade de neurônios de segunda ordem, que atravessam o cordão espinhal para ascender no trato espinotalâmico (RUSSO; BROSE, 1998; FURST, 1999; MILLAN, 1999).

As aminas biogênicas representam outra classe de neurotransmissores encontrados nas vias descendentes que modulam a nocicepção. Serotonina está presente nos neurônios da rafe bulbar e alguns axônios serotoninérgicos terminam diretamente nos pericários dos neurônios do trato espinotalâmico. A ativação dos sistemas adrenérgico e colinérgico associada a dos opióides produz analgesia (ANJANEYULU; CHOPRA, 2006).

Além dos mediadores excitatórios glutamato e aspartato estarem envolvidos na transmissão e processamento no sistema talamocortical, os aminoácidos inibitórios [ácido gama aminobutírico (GABA) e a glicina], as monoaminas (norepinefrina, 5-HT e

dopamina), acetilcolina e histamina também estão relacionadas com a excitabilidade nesse sistema (LAMONT; TRANQUILLI, 2000).

Uma importante via descendente inibidora da nocicepção contendo noradrenalina tem por origem no núcleo do *locus ceruleus*; este sistema inibe a resposta nociceptiva do corno dorsal por um mecanismo α_2 -adrenérgico (FERRO et al., 2013). Drogas que potencializam os efeitos centrais das aminas biogênicas, como os antidepressivos tricíclicos podem, portanto, serem usados como analgésicos adjuvantes eficientes que agem reforçando os efeitos destas vias descendentes (BLALACK, 2010).

A amina biológica dopamina é o neurotransmissor do sistema nervoso central de importância fundamental nas funções motora, motivacional e relacionadas à memorização (COBACHE; CALLE; PAÍNO, 2014). É biossintetizada a partir do aminoácido tirosina, que é convertido em DOPA a partir da ação da tirosina hidroxilase e, em dopamina, pela ação da DOPA- descarboxilase (JAASKELAINEN et al., 2001). Não se trata somente do precursor da norepinefrina, pois por estar amplamente distribuída no SNC, tem papel importante na modulação da dor via receptores dopaminérgicos, com a abertura dos canais para K^+ (OVERTON; VAUTRELLE; REDGRAVE, 2014).

Outra via importante na modulação da nocicepção é a colinérgica muscarínica, em que a acetilcolina é o seu principal neurotransmissor e tem ação em receptores muscarínicos acoplados à proteína G e nicotínicos (KORH et al., 2011). O receptor muscarínico pode sofrer alteração por alguns fármacos, dentre eles a atropina, que são moduladores inespecíficos destes receptores e que agem promovendo a nocicepção (ORTEGA-LEGASPI et al., 2010).

Já o ácido γ -aminobutírico (GABA) é o neurotransmissor com maior atividade inibitória encontrado no sistema nervoso central (OKADA-OGAWA et al., 2015). Os receptores que fazem parte do sistema gabaérgico são três, o $GABA_A$, o $GABA_B$ e o $GABA_C$ e são dependentes de ligantes e causam hiperpolarização nos neurônios excitatórios nos neurônios pós-sinápticos pelo efluxo do íon K^+ e influxo do íon Cl^- . Os principais agentes terapêuticos e moduladores que se ligam a este receptor são os barbitúricos e benzodiazepínicos. Vale ressaltar que o glutamato é um precursor do GABA, logo a redução dos níveis de glutamato promove a redução do GABA na vesícula sináptica (JERGOVA et al., 2012; JAIN et al., 2015).

Os receptores adrenérgicos, outra classe de receptores importantes na modulação da dor, atuam ligando-se à proteína G, a ação desses acoplamentos leva à alteração da

produção de segundos mensageiros, gerando um mecanismo em cascata que amplifica, exponencialmente, a resposta intracelular, resultando em aumento da expressão gênica, produção de secreção celular e contração muscular (LI et al., 2013; ZHANG; BAI, 2014).

3.3 Tratamento para a dor

Em vista da multiplicidade de mecanismos para modular a dor, a existência na literatura de muitos compostos que possam direta ou indiretamente modular sua transmissão não é surpreendente. Mesmo assim, poucos são aqueles com suficiente seletividade de ação ou potência e consequente interesse clínico. Desta forma, a descoberta de fármacos analgésicos se faz necessário e, os mesmos podem produzir seus efeitos ora modulando a liberação de mediadores analgésicos endógenos, ora inibindo a liberação de neurotransmissores algogênicos através de mecanismos pré- ou pós-sinápticos, em níveis central e periférico (MILLAN, 1999; CAVALCANTI; MADDALENA, 2003).

A maioria das síndromes dolorosas é complexa e envolve mais de um tipo de dor. A primeira estratégia para maximizar o sucesso da terapia analgésica é o conceito de analgesia preventiva. O tratamento iniciado antes da injúria inibe o processo de sensibilização periférica e central. A segunda estratégia envolve a combinação de fármacos analgésicos e técnicas que promovam efeito sinérgico como analgesia balanceada. Com estas técnicas podem-se usar baixas doses, diminuindo a possibilidade de efeitos colaterais (KUMAZAWA, 1998).

A utilização de analgésicos para o controle da dor deve seguir os princípios de administração oral sempre que possível, de administração do medicamento em intervalos fixos e doses adicionais para situações de dores súbitas e intermitentes, de utilização da escada analgésica, de individualização da dose para a necessidade de cada doente e de atenção ao detalhe de manter o esquema analgésico adequado à rotina do doente para proporcionar o equilíbrio entre os efeitos analgésico e indesejado (NICHOLSON, 2003).

Os opióides, por exemplo, fármacos tradicionalmente recomendados para o controle da dor aguda e oncológica, produzem efeitos no SNC que podem interferir na função cognitiva, no que se refere à aquisição, processamento e recuperação da informação pelo sistema nervoso (LAWLOR, 2002). Pode induzir alterações de humor,

da concentração, da memória, do tempo de reação e da função psicomotora (BRUERA; PEREIRA, 1998; DAENINCK; BRUERA, 1999). Os receptores opióides (μ e κ) de maior importância clínica estão localizados na periferia, medula espinhal e estruturas supraespinhais, reforçando a ação fisiológica das endorfinas e a das vias inibitórias noradrenérgicas e serotoninérgicas (RIBEIRO; SCHMIDT; SCHIMIDT, 2002).

Os anestésicos locais atuam tanto no bloqueio de canais para sódio, como prevenindo a transmissão do impulso nervoso e a excitação do nociceptor, ou ainda inibindo o processo modulatório de nocicepção quando administrado por via central (LAMONT; TRANQUILLI, 2000; BASSANEZI; OLIVEIRA FILHO, 2006).

Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) continuam sendo a principal ferramenta no tratamento da dor crônica por inibir a atividade da COX e lipoxigenase, prevenindo a síntese de PGs e sensibilização de nociceptores periféricos. A ação dos AINEs é dose-resposta limitada, ou seja, a sua administração em doses superiores às recomendadas não proporciona analgesia suplementar, aumentando a incidência de efeitos colaterais (LAMONT; TRANQUILLI, 2000; BASSANEZI; OLIVEIRA FILHO, 2006).

Os glicocorticoides diminuem a expressão do ácido araquidônico e, conseqüentemente, diminuem seus metabólitos [PG, LT e tromboxano (TX)], diminuem a expressão de IL e TNF- α e estão envolvidos na redução da resposta dolorosa em processos autoimunes (LAMONT; TRANQUILLI, 2000).

Os α_2 -agonistas ligam-se a receptores pré-sinápticos α localizados nas fibras aferentes simpáticas, modulando a liberação de norepinefrina, SP, CGRP e outros neurotransmissores envolvidos na transmissão da informação nociceptiva. No SNC, os receptores α_2 encontram-se no tronco cerebral e a ativação de seus núcleos resultam em sedação e anestesia, além de ativar uma via inibitória descendente da medula espinhal, diminuindo o tônus simpático. Na medula estão localizados no corno posterior e sua ativação inibe a transmissão da informação dolorosa, resultando em analgesia (LAMONT; TRANQUILLI, 2000; BASSANEZI; OLIVEIRA FILHO, 2006; KOH et al., 2015).

Os antagonistas dos receptores de NMDA, como a cetamina, previnem a sensibilização dos neurônios do corno dorsal. Devido seu efeito modulatório da medula espinhal, esta droga pode ser eficaz no tratamento da dor neuropática que normalmente não responde a opióides (LAMONT; TRANQUILLI, 2000; KLATT et al., 2015).

A supressão da resposta clássica do eixo pituitário-adrenal ao estresse, sempre foi reconhecido como o principal objetivo do manejo da dor. O reconhecimento de novos marcadores intracelulares gerados em neurônios do corno dorsal da medula espinhal criou um impulso de novas terapias analgésicas. Estes marcadores são responsáveis pelas alterações fenotípicas nos neurônios sensoriais periféricos: 1) expressão de genes (c-fos) que codificam proteínas envolvidas na iniciação de excitabilidade neuronal de longa duração; 2) ativação de enzimas (PKC e NOS) que possuem um importante papel na sensibilização central e desenvolvimento na tolerância por opióides; 3) secreção do NGF e citocinas neuropoiéticas, contribuindo para a sensibilização central e periférica (LAMONT; TRANQUILLI, 2000).

Embora um considerável número de drogas analgésicas esteja disponível para o tratamento da dor, a pesquisa para desenvolvimento de novos compostos como alternativa terapêutica vai desde a avaliação farmacológica da droga até a abrangência dos seus efeitos colaterais (ALMEIDA; NAVARRO; BARBOSA-FILHO, 2001). Devido ao baixo custo e à facilidade de disponibilidade de plantas em diversos países, produtos naturais têm sido utilizados como modelos para síntese de drogas mais seletivas e potentes (GONÇALVES et al., 2008).

O uso abusivo e incorreto de fármacos sintéticos, os quais podem gerar sérios efeitos colaterais e as dificuldades de acesso aos tratamentos convencionais, estão entre as principais razões de interesse no conhecimento das plantas medicinais. Estas plantas e os fitoterápicos são medicamentos largamente utilizados pela população constituindo-se um mercado em potencial expansão, entretanto, pouco conhecimento científico existe acerca das plantas de uso terapêutico (CARVALHO et al., 2008).

3.4 Produtos naturais e *Caesalpinia pyramidalis*

O conhecimento do uso terapêutico dos recursos naturais pelo homem, ao longo dos tempos, possivelmente garantiu sua sobrevivência e foi objeto de especial cuidado por parte das populações tradicionais (ALMEIDA et al., 2006). O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 56.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (GIULIETTI et al., 2005). Destas, apenas 8% foram estudadas em busca de compostos bioativos e 1.100 espécies vegetais foram avaliadas em suas propriedades medicinais, com 512 plantas registradas para comercialização no Ministério da Saúde (CARVALHO et al., 2008).

O mercado mundial de medicamentos é da ordem de US\$ 300 bilhões anuais, sendo que 60% desses medicamentos originam-se de síntese orgânica, especialmente de química combinatória. Os 40% restantes do arsenal terapêutico disponível na atualidade foram obtidos direta ou indiretamente de fontes naturais (cerca de 25% de plantas, 13% de micro-organismos e 2% de animais) (CALIXTO, 2000).

As plantas medicinais que têm sua eficácia terapêutica e toxicológica ou segurança de uso avaliadas, dentre outros aspectos, ou foram estudadas cientificamente para serem utilizadas pela população nas suas necessidades básicas de saúde, além de possuírem outras vantagens como facilidade de acesso, baixo custo quando utilizadas *in natura* e compatibilidade cultural com as tradições populares (GAZZANEO; LUCENA; ALBUQUERQUE, 2005).

O gênero *Caesalpinia*, por possuir várias espécies que são utilizadas pela população, apresenta-se como um importante objeto de estudo para dar uma base científica ao conhecimento popular ou para a obtenção de novas estruturas químicas de interesse à indústria farmacêutica (BAHIA et al., 2005). A *C. pulcherrima* e a *C. bonducella* possuem importância na medicina popular devido às suas propriedades anti-inflamatórias (ARCHANA et al., 2005; RAO; FANG; TZENG, 2005). A *C. cheilanta* é usada contra dores de cabeça e expectorante, a *C. ferrea* contra doenças renais e labirintite (ALBUQUERQUE, 2006), e a *C. sappan* é utilizada devido suas propriedades antioxidantes (BADAMI et al., 2003).

A espécie arbórea *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Figura 2) pertencente à família Fabaceae, subfamília Caesalpinioideae, conhecida popularmente como “catingueira” (ALVES et al., 2007; GANGNON et al., 2013), é característica da caatinga, vegetando em lugares pedregosos (SILVA; MATOS, 1998). Suas flores, folhas e cascas são usadas em infecções catarrais e diarreicas (MONTEIRO et al., 2005) e como agentes anti-inflamatórios (BAHIA et al., 2005), possuindo bom potencial antioxidante (ALVIANO et al., 2008). A entrecasca da “catingueira” é usada como afrodisíaco, contra disenterias, diarreias e como expectorante, usado na bronquite, tosses e infecções respiratórias em preparados como infusão, decocção e garrafada (AGRA et al., 2007; CARTAXO; SOUZA; ALBUQUERQUE, 2010).



Figura 2: Hábito de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabaceae). Fonte: CINP, 2011.

Nosso grupo de pesquisa, em estudos anteriores, observou que o extrato etanólico da *Caesalpinia pyramidalis* apresenta atividades anti-inflamatórias, nos testes do edema de pata em ratos e peritonite em camundongos na dose de 400 mg/kg, sem alterar a pressão arterial, e antinociceptiva, nos testes das contorções abdominais e formalina em ambas as fases nas doses de 100, 200 e 400 mg/kg, e placa quente em camundongos na dose de 400 mg/kg, sem apresentar alteração na performance no teste do rota-rod (SANTOS et al., 2011) e campo aberto (SANTANA et al., 2012). Em outros estudos apresentou efeito gastroprotetor nos modelos de úlcera produzida por etanol ou indometacina, além de aumentar a produção de muco (RIBEIRO et al., 2013; DINIZ et al., 2015).

Santana et al. (2012) observaram a redução da hiperalgesia abdominal provocada pela obstrução do ducto biliopancreático após a administração de uma ou duas doses do extrato etanólico da *C. pyramidalis* na dose de 400 mg/kg, além de diminuir os níveis de malondialdeído (MDA) pancreático e contagem de leucócitos no sangue.

Moraes et al. (2013) observaram que o extrato da *Caesalpinia pyramidalis* reduziu o dano à bexiga após indução de cistite por ciclofosfamida. Neste estudo, os autores mostraram a atividade antioxidante do extrato etanólico da planta com base na redução da produção de MDA, no teste de lipoperoxidação *ex vivo* nos tecidos do pâncreas e do pulmão em camundongos com pancreatite (SANTANA et al., 2012) e na bexiga com cistite (MORAES et al., 2013). Além disso, um estudo de Silva et al. (2011)

mostrou que o extrato etanólico da casca da *Caesalpinia pyramidalis* possui expressiva atividade antioxidante quando utilizando os ensaios de 2,2-difenil-1,1-picrilidrazil (DPPH) e de quelação de íons ferroso (FIC) quando comparado com o ácido ascórbico e rutina, flavonóide este encontrado em perfil cromatográfico preliminar do EE da *C. pyramidalis*, por cromatografia líquida de alta eficiência, momento em que não foram encontrados os marcadores quercetina, apigenina ou baicaleína (SANTANA et al., 2012).

4 MÉTODOS

4.1 Planta (coleta e identificação)

A entrecasca do tronco da planta *C. pyramidalis* foi coletada no povoado Xingó, município de Canindé do São Francisco, estado de Sergipe (09°66'00" S, 37°78'94" O), em setembro de 2008. Um espécime foi identificado pela botânica professora Ana Paula Prata, do Departamento de Biologia da UFS, e depositado no Herbário da Universidade Federal de Sergipe (Av. Marechal Rondon S/N, São Cristóvão - SE 49100-000, Brasil) sob nº ASE 13.164. Antes da extração, a entrecasca foi seca em estufa (Marconi MA 037) a 40°C, com renovação e circulação de ar, durante 48 h.

4.2 Preparação do extrato etanólico

A entrecasca seca (2840 g) da *C. pyramidalis* foi, inicialmente, moída até ser transformada em pó e, posteriormente, submetida à extração com etanol a 90% em percolador de aço inoxidável durante cinco dias. Após concentração do solvente em evaporador rotativo sob pressão reduzida a 45°C, com um rendimento de 2,62%, obteve-se o extrato etanólico (EE) bruto, que foi seco e submetido aos ensaios preliminares para avaliação dos possíveis mecanismos de ação antinociceptiva.

4.3 Animais

Os animais, camundongos Swiss, machos, foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe (São Cristóvão, Brasil) e trazidos para o biotério local do Departamento de Fisiologia antes do uso, onde permaneceram por, pelo menos, dois dias até o manuseio. Os animais foram aleatoriamente divididos em grupos e mantidos em caixas plásticas (8 camundongos por caixa, no máximo) em sala com temperatura controlada ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), com água e ração (Purina®) *ad libitum*, sob ciclo claro/escuro de 12:12 h e troca diária da serragem. Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos durante o período das 7 às 17 h, e de acordo com as normas de procedimentos sobre cuidados com animais para uso em pesquisa do Comitê de Ética da Universidade Federal de Sergipe, da Sociedade Brasileira de Cuidados com Animais de Laboratório (SBCAL) e das Diretrizes Éticas para as Investigações de Dor Experimental em Animais Conscientes (ZIMMERMANN, 1983). Os animais submetidos à

administração oral do EE da *C. pyramidalis* e dos controles foram aclimatados no ambiente laboratorial, no qual o experimento seria executado, por 24 h e colocados em jejum de 6 h antes do experimento. Posteriormente, após o manuseio dos animais nos procedimentos *in vivo*, estes foram anestesiados com uma dose de 50 mg/kg intraperitonealmente (i.p.) de tiopental sódico (Thiopentax – Cristália/SP) e eutanasiados por deslocamento da região cervical da coluna vertebral, acondicionados em sacos plásticos brancos e guardados em freezer reservado para esta finalidade, até o descarte definitivo conforme a rotina do Departamento de Fisiologia, pelo serviço de coleta seletiva de lixo biológico da UFS. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEPA) da Universidade Federal de Sergipe sob protocolo n.º 77/2010 (ANEXO 1).

4.4 Teste de contorções abdominais

A fim de se investigar os possíveis mecanismos pelos quais o EE da *C. pyramidalis* exerce seu efeito antinociceptivo, diferentes ferramentas, como bloqueios farmacológicos, foram empregadas. O teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético (solução a 0,6%, 0,1 mL/10 g) foi utilizado como modelo experimental, por ser um teste padrão, simples e sensível para medir antinocicepção induzida tanto por analgésicos de ação central quanto periférica (HAYES; SHEENAN; TYERS, 1987), além de ser comumente empregado como um modelo de dor visceral inflamatória (LE BARS; GOZARIU; CADDEN, 2001). Foi considerada contorção abdominal o movimento estereotipado no animal contorcendo o dorso e abdômen seguido do alongamento completo de uma das patas traseiras. Todos os testes foram realizados de maneira encoberta, por um único investigador, de modo que o analista não sabia qual tratamento farmacológico havia sido administrado em cada animal.

4.4.1 Escolha da dose

Para avaliação da dose a ser utilizada nos experimentos de mecanismo de ação, grupos de animais (n = 6/grupo) foram submetidos à administração do veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o.), EE da *C. pyramidalis* (10, 30 e 100 mg/kg, v.o.) e ácido acetilsalicílico (AAS, 300 mg/kg, v.o.). Decorridos 60 min do tratamento, os animais foram submetidos ao teste das contorções abdominais – administração de ácido acético a 0,6% (i.p., 0,1 mL/10 g) e quantificação das contorções abdominais durante 20 min depois de

4.4.3 Participação da via do monofosfato de guanosina cíclico (GMPc)

Para avaliar a participação da via do monofosfato de guanosina cíclico/óxido nítrico no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, 16 animais foram pré-tratados com azul de metileno (inibidor não-específico do óxido nítrico/gluanilato ciclase; 20 mg/kg, i.p.) e, após 15 min, os animais receberam o EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8) (ABACIOGLU et al., 2000; PERIMAL et al., 2011). Após 60 min, os animais foram submetidos ao teste das contorções abdominais. Os 2 grupos controle receberam veículo (Tween 80 a 0,2%; v.o., n = 8), 15 min antes da administração do EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8), 60 min antes da indução da nocicepção (Figura 4).

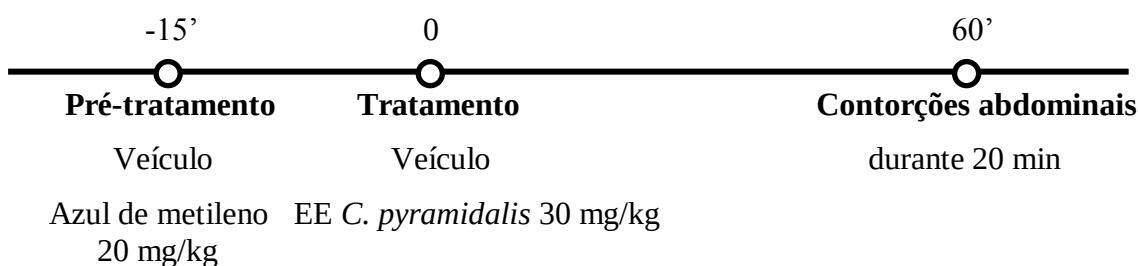


Figura 5: Linha do tempo referente ao estudo da participação do monofosfato de guanosina cíclico.

4.4.4 Participação dos canais de K⁺ sensíveis ao ATP

Para avaliar a contribuição dos canais de K⁺ no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, 16 animais foram pré-tratados com glibenclamida (inibidor dos canais de K⁺ sensíveis ao ATP; 10 mg/kg, i.p.) e, após 15 min, os animais receberam o EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8) (PERIMAL et al., 2011; MOHAMAD et al., 2011). Após 60 min, os animais foram submetidos ao teste das contorções abdominais. Os 2 grupos controle receberam veículo (Tween 80 a 0,2%; v.o., n = 8), 15 min antes da administração do EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8), 60 min antes da indução da nocicepção (Figura 5).

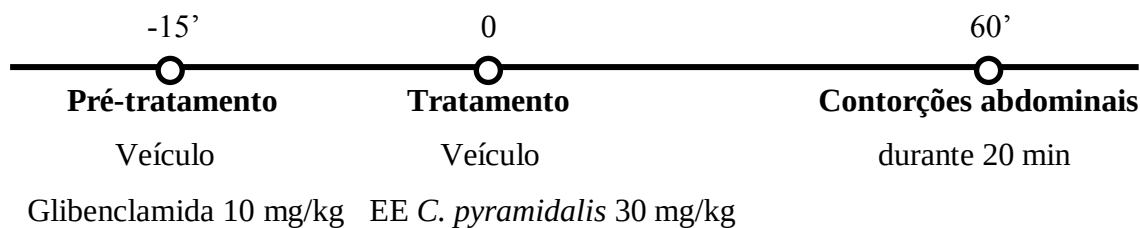


Figura 6: Linha do tempo referente ao estudo da participação dos canais de K^+ sensíveis ao ATP.

4.4.5 Participação do sistema colinérgico-muscarínico

A fim de se avaliar a participação das vias descendentes inibitórias colinérgico-muscarínicas, 24 camundongos foram pré-tratados com atropina (antagonista não-seletivo dos receptores muscarínicos; 0,1 mg/kg; i.p.) e, após 15 min, com EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg; v.o.; $n = 8$), acetilcolina (1 mg/kg; i.p.; $n = 8$) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., $n = 8$) (DE SOUZA et al., 2009). Decorridos 60 min deste último tratamento, os animais foram submetidos ao teste das contorções. Em separado, 3 grupos controle receberam veículo (Tween 80 a 0,2%; v.o., $n = 8$), 15 min antes da administração do EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o., $n = 8$), acetilcolina (1 mg/kg, i.p., $n = 8$) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., $n = 8$), 60 min antes da indução da nocicepção (Figura 6).

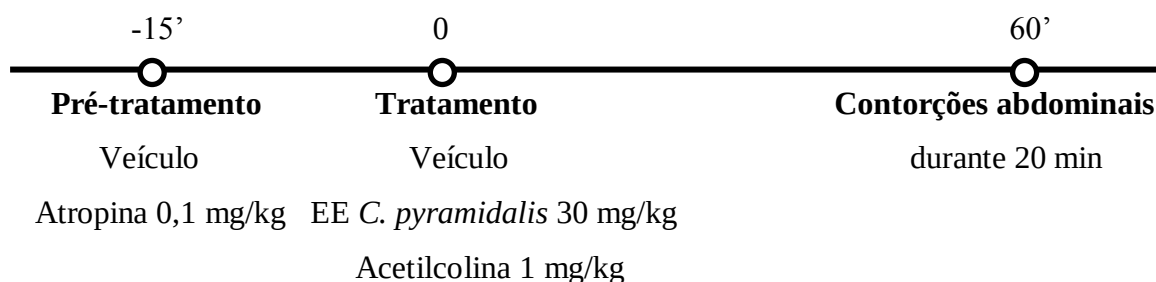


Figura 7: Linha do tempo referente ao estudo da participação colinérgico-muscarínica.

4.4.6 Participação de α_1 -adrenoceptores

Para avaliar a participação de mecanismos envolvendo receptores adrenérgicos α_1 na atividade antinociceptiva do EE da *C. pyramidalis*, 24 camundongos foram pré-tratados com prazosina (antagonista seletivo dos receptores α_1 ; 0,15 mg/kg, i.p.) e, após 15 min, os animais receberam o EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.; $n = 8$), fenilefrina (agonista seletivo dos receptores α_1 ; 1 mg/kg, i.p.; $n = 8$) ou veículo (Tween

80 a 0,2%, v.o., n = 8) (DE SOUZA et al., 2009). Decorridos 60 min, os animais foram submetidos ao teste das contorções abdominais. Em separado, 3 grupos controle receberam veículo (Tween 80 a 0,2%; v.o., n = 8), 15 min antes da administração do EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o., n = 8), fenilefrina (1 mg/kg, i.p., n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8), 60 min antes da indução da nocicepção (Figura 7).

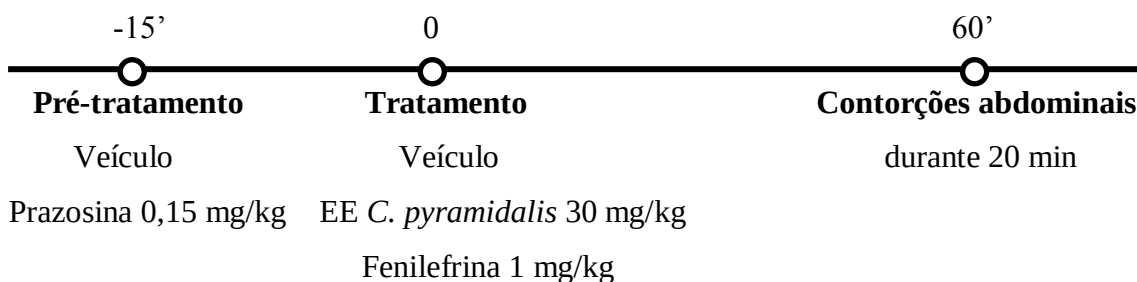


Figura 8: Linha do tempo referente ao estudo da participação dos α_1 -adrenorreceptores.

4.4.7 Participação de α_2 -adrenoreceptores

Para avaliar a participação de mecanismos envolvendo receptores adrenérgicos α_2 no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, 24 camundongos foram pré-tratados com ioimbina (antagonista seletivo dos receptores α_2 ; 0,15 mg/kg, i.p.) e, após 15 min, os animais receberam EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o., n = 8), clonidina (agonista seletivo dos receptores α_2 ; 0,1 mg/kg, i.p., n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8) (DE SOUZA et al., 2009). Após 60 min, os animais foram submetidos ao teste das contorções abdominais. Os 3 grupos controle receberam veículo (Tween 80 a 0,2%; v.o., n = 8), 15 min antes da administração do EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o., n = 8), clonidina (0,1 mg/kg, i.p., n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8), 60 min antes da indução da nocicepção (Figura 8).

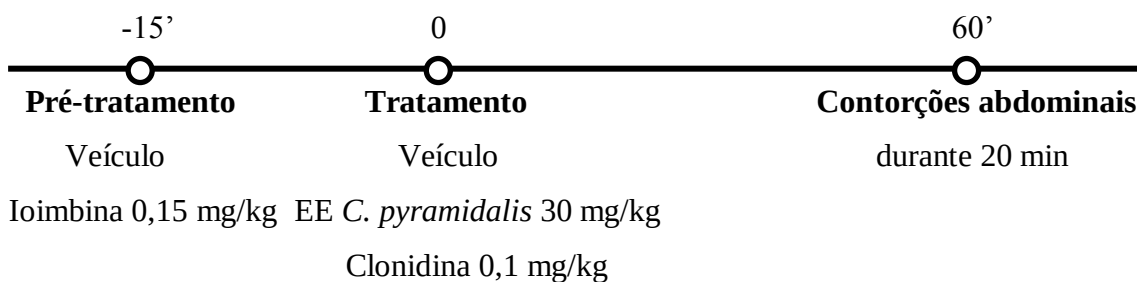


Figura 9: Linha do tempo referente ao estudo da participação dos α_2 -adrenoreceptores.

4.4.8 Participação dos receptores dopaminérgicos

Para avaliar a participação dos receptores dopaminérgicos no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, 16 animais foram pré-tratados com haloperidol (antagonista não-seletivo dos receptores dopaminérgicos; 2 mg/kg, i.p.) e após 15 min os animais receberam o EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8) (DE SOUZA et al., 2009). Após 60 min, os animais foram submetidos ao teste das contorções abdominais. Os 2 grupos controle receberam veículo (Tween 80 a 0,2%; v.o., n = 8) 15 min antes da administração do EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8) 60 min antes da indução da nocicepção (Figura 9).

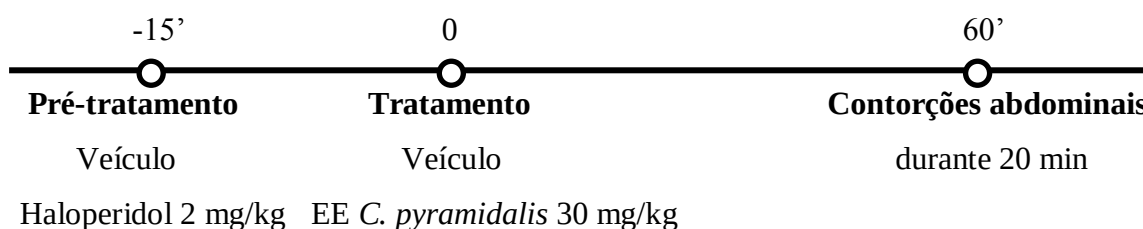


Figura 10: Linha do tempo referente ao estudo da participação dos receptores dopaminérgicos.

4.4.9 Participação dos estoques endógenos de aminas bioativas

Para avaliar a participação dos estoques endógenos de aminas bioativas na atividade antinociceptiva exercida pelo EE da *C. pyramidalis*, 24 animais foram pré-tratados com reserpina (inibidor da captação vesicular de monoaminas e da formação de estoques vesiculares de neurotransmissores; 5 mg/kg, i.p.) 24 h antes do tratamento com EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o., n = 8), clomipramina (inibidor da recaptação neuronal de monoaminas; 10 mg/kg, i.p.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8) (OCHI; OHKUBO; MUTOH, 2002). Após 60 min, os animais tratados foram submetidos ao teste das contorções abdominais. Os 3 grupos controle receberam veículo (Tween 80 a 0,2%; v.o., n = 8), 24 h antes da administração do EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o., n = 8), clomipramina (10 mg/kg, i.p.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8), 60 min antes da indução da nocicepção (Figura 10).

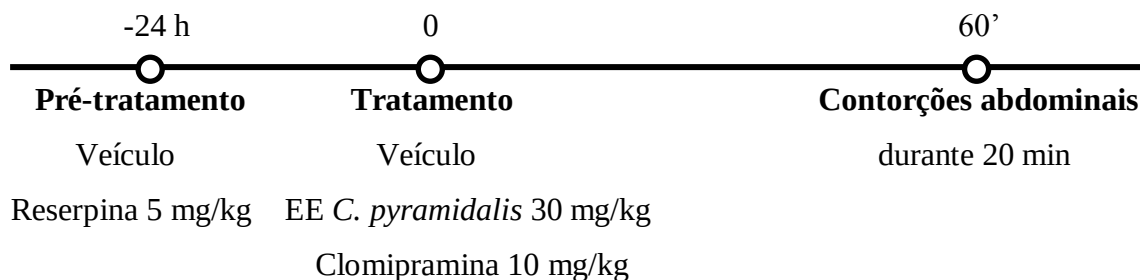


Figura 11: Linha do tempo referente a participação dos estoques endógenos de aminas bioativas.

4.4.10 Participação do sistema adenosinérgico

Para avaliar a participação do sistema adenosinérgico no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, 24 animais foram pré-tratados com cafeína (antagonista não-seletivo dos receptores adenosinérgicos; 3 mg/kg, i.p.) e após 15 min os animais receberam o EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.; n = 8), adenosina (agonista dos receptores adenosinérgicos, 100 mg/kg, i.p.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8) (SAWYNOK, 1998). Após 60 min os animais foram submetidos ao teste das contorções abdominais. Os 3 grupos controle receberam veículo (Tween 80 a 0,2%; v.o., n = 8) 15 min antes da administração do EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.; n = 8), adenosina (100 mg/kg, i.p.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8), 60 min antes da indução da nocicepção (Figura 11).

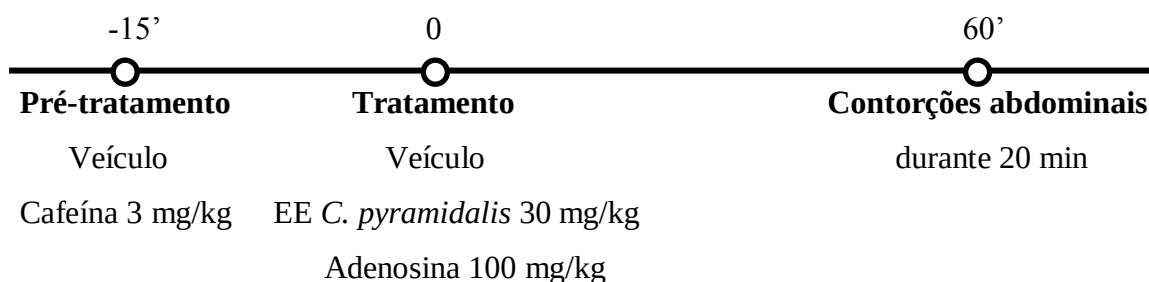


Figura 12: Linha do tempo referente ao estudo da participação do sistema adenosinérgico.

4.4.11 Participação do sistema gabaérgico

Para avaliar a participação do sistema gabaérgico no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, 24 animais foram pré-tratados com flumazenil (antagonista não-seletivo dos receptores gabaérgicos; 2 mg/kg, i.p.) e após 15 min os animais receberam

o EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.; n = 8), diazepam (agonista não-seletivo dos receptores gabaérgicos, 1,5 mg/kg, i.p.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8) (TALAREK; FIDECKA, 2002). Após 60 min os animais foram submetidos ao teste das contorções abdominais. Os 3 grupos controle receberam veículo (Tween 80 a 0,2%; v.o., n = 8) 15 min antes da administração do EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o.; n = 8), diazepam (1,5 mg/kg, i.p.; n = 8) ou veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8), 60 min antes da indução da nocicepção (Figura 12).

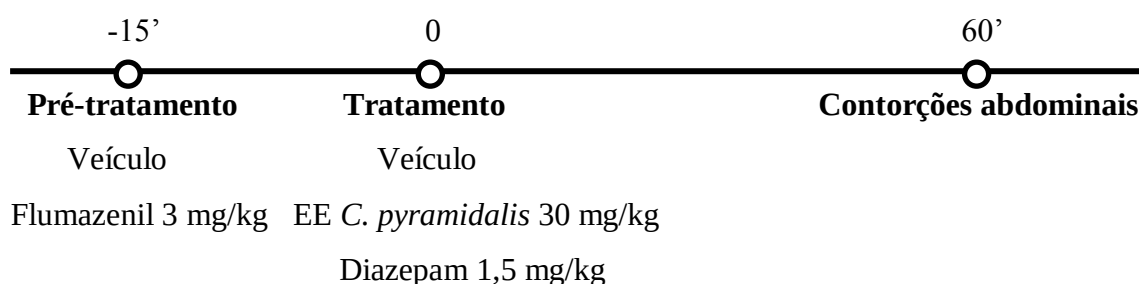


Figura 13: Linha do tempo referente ao estudo da participação dos receptores gabaérgicos

4.5 Teste da nocicepção induzida por capsaicina

Grupos de animais (n = 8/grupo) foram tratados com veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., 60 min antes), EE da *C. pyramidalis* em diferentes doses (10, 30 e 100 mg/kg, v.o., 60 min antes) ou morfina (3 mg/kg, i.p., 30 min antes) e, posteriormente, receberam a injeção de 20 µL de uma solução de capsaicina (1,6 µg/pata). Em seguida, os animais foram colocados em caixas espelhadas, e observados durante os 5 min subsequentes. O tempo que os animais despenderam lambendo ou mordendo a pata injetada foi registrado com o auxílio de um cronômetro, e considerado como indicativo de nocicepção (SAKURADA et al., 1992; SANTOS; CALIXTO, 2000) (Figura 13).

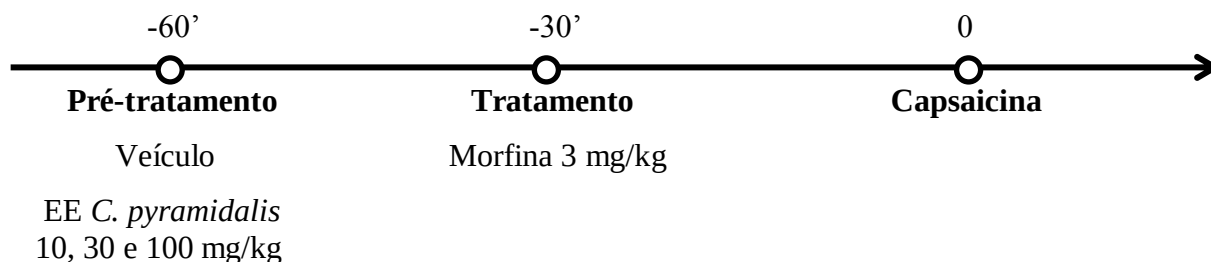


Figura 14: Linha do tempo referente ao estudo da nocicepção induzida por capsaicina.

4.6 Teste da nocicepção induzida por glutamato

Com o objetivo de obter evidências mais diretas a respeito da interação do EE da *C. pyramidalis* com o sistema glutamatérgico, foi avaliado seu efeito frente à injeção i.pl. de glutamato. Camundongos foram tratados com veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., 60 min antes), EE da *C. pyramidalis* nas doses de 10, 30 ou 100 mg/kg (v.o., 60 min antes) ou morfina (3 mg/kg, i.p., 30 min antes) (n = 8/grupo). Posteriormente, foram submetidos à injeção de 20 µL de uma solução de glutamato (20 µmol/pata) na pata posterior direita. Em seguida, os animais foram observados por um período de 15 min em caixas espelhadas, iniciado imediatamente após a injeção de glutamato (BEIRITH; SANTOS; CALIXTO, 2002). O tempo despendido pelos animais para lambar ou morder a pata injetada foi considerado como indicativo de nocicepção (Figura 14).

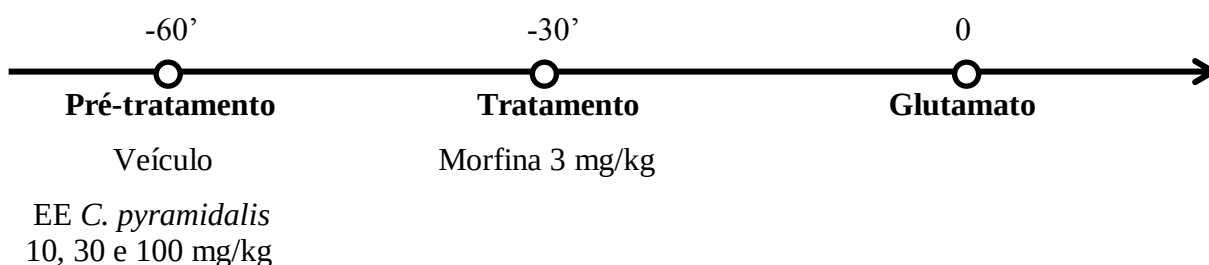


Figura 15: Linha do tempo referente ao estudo da nocicepção induzida pelo glutamato.

4.7 Determinação dos níveis de glicemia

Grupos de animais foram submetidos à coleta de sangue da veia caudal, após 6 horas da administração dos tratamentos com veículo (Tween 80 a 0,2%, v.o., n = 8) ou EE da *C. pyramidalis* (30 mg/kg, v.o., n = 8). Os níveis de glicose foram mensurados utilizando o kit manufaturado Glicose Liquiform – Labtest (SANTOS et al., 2013).

4.8 Análise estatística

Os resultados estão expressos como média ± erro padrão das médias (E.P.M.) de 6-8 animais por grupo. Para testar a normalidade dos dados, utilizou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov e a avaliação dos dados foi realizada usando análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Bonferroni para comparação intergrupos ou teste t, utilizando o GraphPad Prism versão 6.01. Valores com $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

5 RESULTADOS

5.1 Teste de contorções abdominais

No teste das contorções abdominais, como observado na Figura 16, a menor dose do EE da *C. pyramidalis* capaz de diminuir significativamente ($P < 0,001$) o número de contorções foi a de 30 mg/kg quando comparado aos animais que receberam o veículo, sendo esta a escolhida para os testes de mecanismo de ação antinociceptivo do extrato da planta. O grupo de animais que recebeu a dose de 100 mg/kg também apresentou redução do número de contorções semelhante àqueles que receberam a dose de 30 mg/kg do EE da *C. pyramidalis* ($P < 0,001$), bem como os animais do grupo controle que receberam o ácido acetilsalicílico na dose de 300 mg/kg ($P < 0,001$), comparando-se aos animais que receberam o veículo. A redução observada foi de maneira dose-dependente.

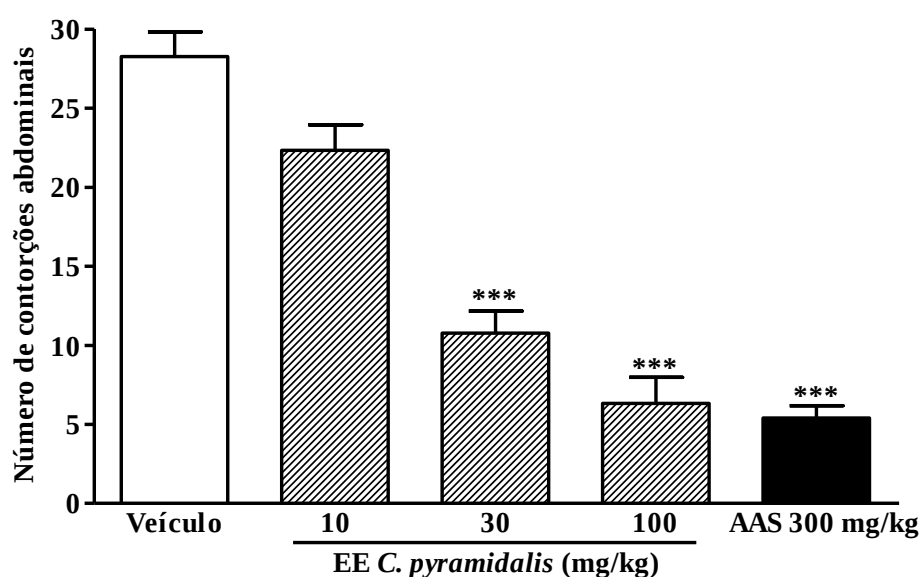


Figura 16: Número de contorções abdominais promovidas pelo ácido acético em camundongos. Grupos de camundongos foram tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), extrato etanólico da *Caesalpinia pyramidalis* (10, 30 e 100 mg/kg) ou ácido acetilsalicílico (300 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. do número de contorções abdominais. Os asteriscos denotam diferenças estatísticas, *** $P < 0,001$ em relação ao grupo veículo. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 6$ animais/grupo).

5.1.1 Participação do sistema L-arginina/óxido nítrico

O número de contorções abdominais foi significativamente menor nos grupos de animais que receberam L-NOARG, EE da *C. pyramidalis* ou a associação de L-arginina

e o EE da *C. pyramidalis*, quando comparados ao grupo de animais que receberam o veículo (Figura 17), apresentando uma inibição no número de contorções abdominais de 40,16% ($P < 0,001$), 61,46% ($P < 0,001$) e 29,52% ($P < 0,05$), respectivamente. O grupo de animais tratados com L-NOARG quando comparado ao grupo que recebeu L-NOARG juntamente com a L-arginina apresentou uma redução de 40,85% no número de contorções abdominais ($P < 0,001$). O grupo de animais que receberam o EE da *C. pyramidalis* apresentou uma diminuição de 45,32% no número de contorções abdominais quando comparado aos animais que receberam L-arginina mais o EE da *C. pyramidalis* ($P < 0,001$). Os animais tratados com L-arginina associados ou não a L-NOARG, não mostraram redução no número de contorções abdominais quando comparado aos animais que receberam o veículo.

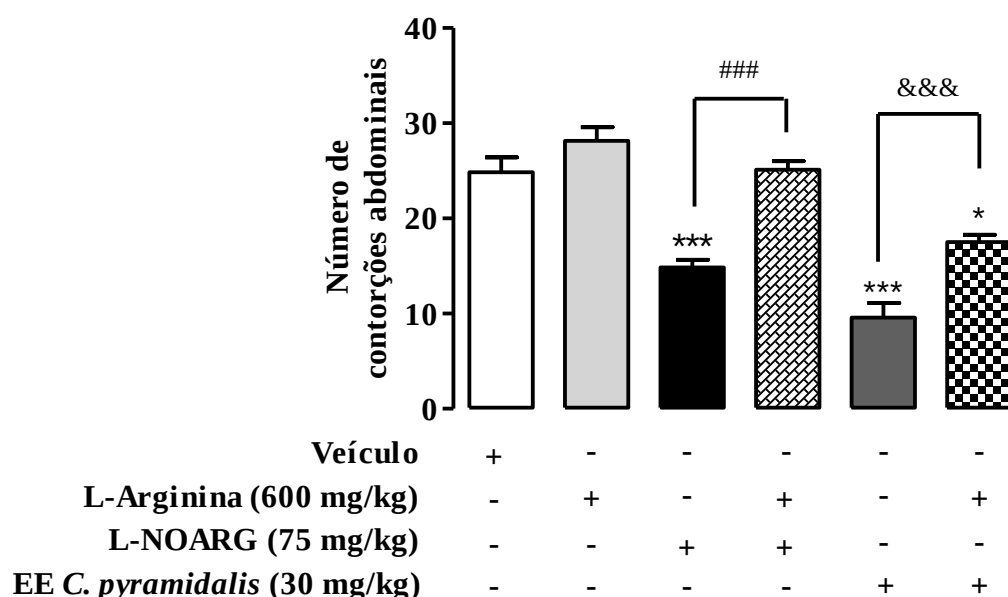


Figura 17: Número de contorções abdominais na investigação da participação do sistema L-arginina/óxido nítrico no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*.

Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), L-arginina (600 mg/kg), L-NOARG (75 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (30 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. Os símbolos denotam diferenças estatísticas, * $P < 0,05$ e *** $P < 0,001$ em relação ao grupo controle (veículo), ### $P < 0,001$ quando comparando os animais que receberam L-NOARG àqueles que receberam L-arginina e L-NOARG, &&& $P < 0,001$ quando comparando os animais que receberam o extrato etanólico da *Caesalpinia pyramidalis* àqueles que receberam L-arginina e EE da *Caesalpinia pyramidalis*. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 8$ animais/grupo).

5.1.3 Participação da via óxido nítrico/GMPc

Foi observado que, nos grupos de animais que receberam o azul de metileno, o EE da *C. pyramidalis* ou a associação azul de metileno e EE da *C. pyramidalis*, o

número de contorções abdominais diminuíram em 40,86%, 61,08% e 70,69%, respectivamente, quando comparadas ao grupo que recebeu veículo cujos animais apresentaram $26,00 \pm 1,00$ contorções abdominais ($P < 0,001$). Quando a comparação é feita com o grupo que recebeu o EE da *C. pyramidalis* àquele que recebeu azul de metileno e EE da *C. pyramidalis*, observa-se uma diminuição no número de contorções abdominais neste grupo ($P < 0,05$) (Figura 18).

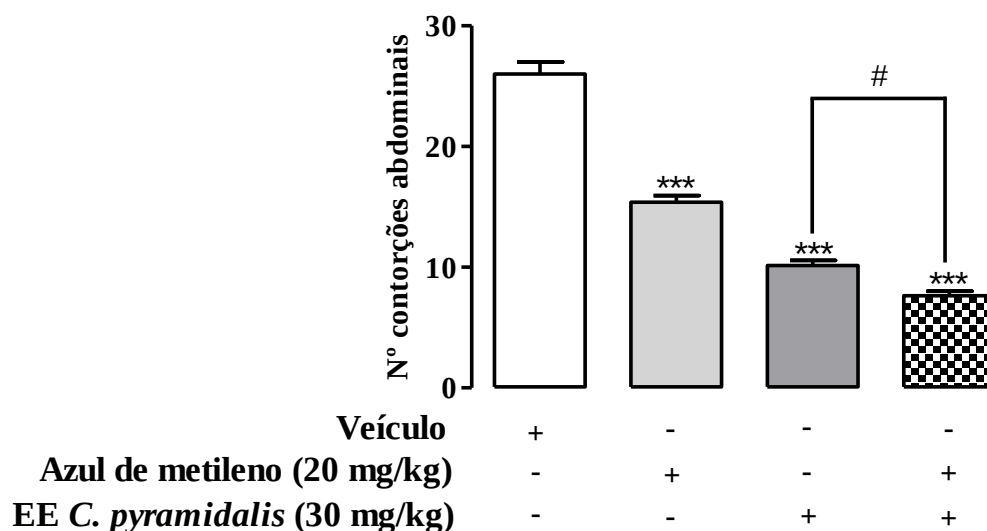


Figura 18: Número de contorções abdominais na investigação da via óxido nítrico/GMPc no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*. Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), azul de metileno (20 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (30 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. Os símbolos denotam diferenças estatísticas, *** $P < 0,001$ em relação ao grupo controle (veículo), # $P < 0,05$ quando comparando os animais que receberam o extrato etanólico da *Caesalpinia pyramidalis* àqueles que receberam azul de metileno e EE da *Caesalpinia pyramidalis*. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 8$ animais/grupo).

5.1.4 Participação dos canais de K^+ sensíveis ao ATP

Os grupos de animais que receberam a administração de EE da *C. pyramidalis* e glibenclamida e tratamento com EE da *C. pyramidalis* apresentaram uma menor contagem no número de contorções abdominais quando comparados ao grupo de animais que receberam o veículo que apresentaram, $23,50 \pm 1,03$ contorções abdominais, sendo uma redução de 64,38% e 36,72%, respectivamente ($P < 0,001$). Os animais que receberam o tratamento com a glibenclamida não mostraram redução no número de contorções abdominais quando comparados com os animais que receberam o veículo. Houve uma redução de 43,71% no número de contorções abdominais quando o grupo de animais que receberam o EE da *C. pyramidalis* foi comparado ao grupo de

animais que receberam a glibenclamida mais EE da *C. pyramidalis* ($P < 0,001$) (Figura 19).

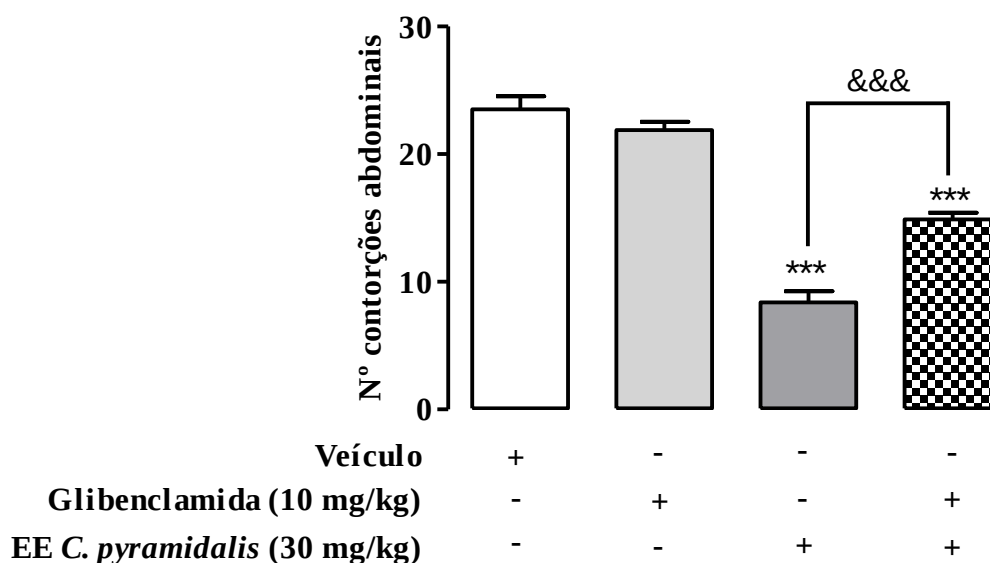


Figura 19: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos canais de K^+ sensíveis ao ATP no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*.

Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), glibenclamida (10 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (30 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. Os símbolos denotam diferenças estatísticas, *** $P < 0,001$ em relação ao grupo controle (veículo), &&& $P < 0,001$ quando comparado aos animais que receberam o extrato etanólico da *Caesalpinia pyramidalis* àqueles que receberam glibenclamida e EE da *Caesalpinia pyramidalis*. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 8$ animais/grupo).

5.1.5 Participação do sistema colinérgico-muscarínico

Os grupos de animais que receberam o tratamento com atropina, os co-tratados com atropina e acetilcolina ou atropina e EE da *C. pyramidalis* não apresentaram redução no número de contorções abdominais quando comparado com o grupo de animais que receberam o veículo cuja média foi de $32,28 \pm 1,59$ contorções abdominais durante o período de observação, após administração do ácido acético. Quando os animais receberam acetilcolina ou EE da *C. pyramidalis*, o número de contorções abdominais foi menor em 30,98% ($P < 0,01$) e 67,10% ($P < 0,001$), respectivamente, comparando-se ao grupo de animais que receberam o veículo. Quando o número de contorções abdominais dos animais que receberam acetilcolina foi comparado ao número de contorções do grupo que recebeu acetilcolina e atropina observou-se uma redução de 28,13% ($P < 0,05$), ademais, quando se comparou o grupo que recebeu o EE

da *C. pyramidalis* ao grupo que recebeu o EE da *C. pyramidalis* e atropina a diminuição foi de 39,33% ($P < 0,001$) (Figura 20).

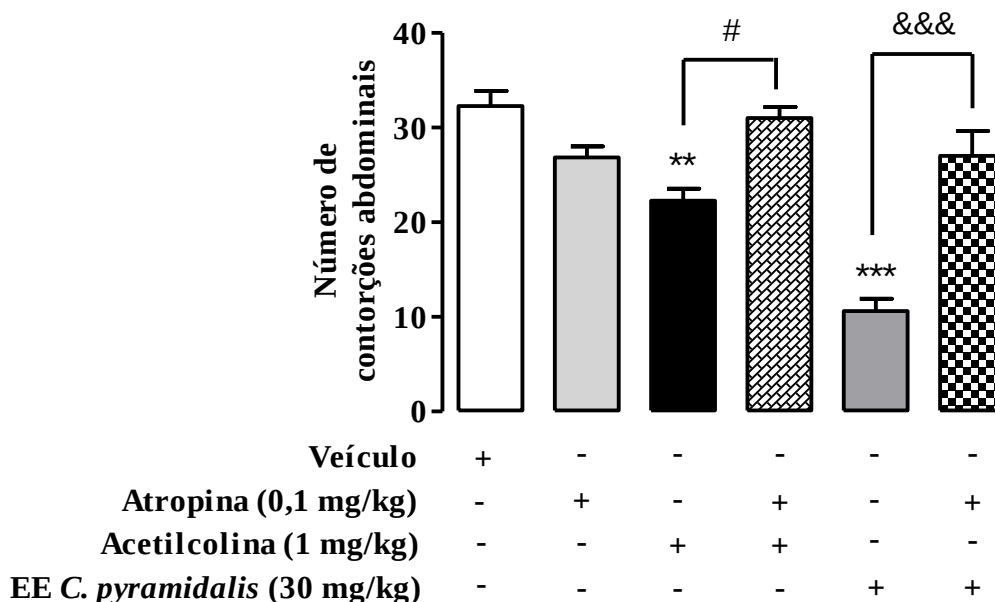


Figura 20: Número de contorções abdominais na investigação da participação do sistema colinérgico muscarínico no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*.

Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), atropina (0,1 mg/kg), acetilcolina (1 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (30 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. Os símbolos denotam diferenças estatísticas, $^{**}P < 0,1$ e $^{***}P < 0,001$ em relação ao grupo controle (veículo), $^{\#}P < 0,05$ quando comparando os animais que receberam acetilcolina àqueles que receberam atropina e acetilcolina, $^{\&\&\&}P < 0,001$ quando comparando os animais que receberam EE da *Caesalpinia pyramidalis* àqueles que receberam atropina e extrato etanólico da *Caesalpinia pyramidalis*. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 8$ animais/grupo).

5.1.6 Participação dos α_1 -adrenoceptores

Quando os animais que receberam a administração de fenilefrina, prazosina mais fenilefrina, EE da *C. pyramidalis* e prazosina mais EE da *C. pyramidalis* foram comparados com o grupo de animais que receberam o veículo que apresentaram $23,50 \pm 1,03$ contorções abdominais, apresentaram um menor número de contorções abdominais com uma inibição de 86,17%, 53,91%, 64,38% e 76,08%, respectivamente ($P < 0,001$); já o grupo de animais que receberam o tratamento com prazosina não apresentou diferença quando comparado com os animais do grupo que recebeu o veículo. Quando o grupo de animais que receberam fenilefrina foi comparado ao grupo que recebeu o co-tratamento de prazosina e fenilefrina foi observada uma redução de 69,70% no número de contorções abdominais ($P < 0,001$) (Figura 21).

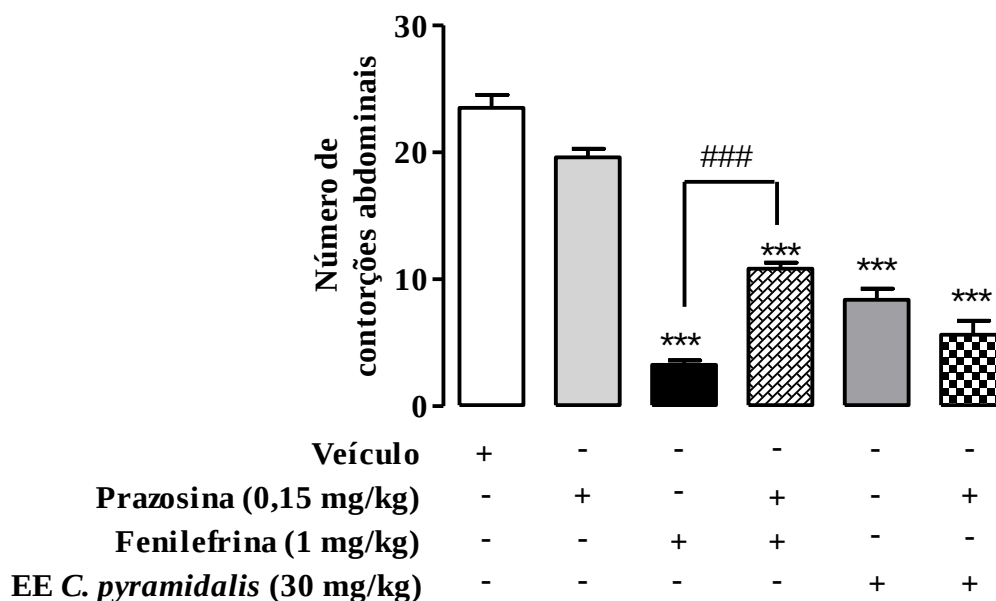


Figura 21: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos α_1 -adrenoceptores no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*. Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), prazosina (0,15 mg/kg), fenilefrina (1 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (30 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. Os símbolos denotam diferenças estatísticas, *P < 0,05 e ***P < 0,001 em relação ao grupo controle (veículo), ###P < 0,001 quando comparando os animais que receberam prazosina e fenilefrina àqueles que receberam somente a fenilefrina. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni (n = 8 animais/grupo).

5.1.7 Participação dos α_2 -adrenoceptores

Ao promover as contorções abdominais, após injeção de ácido acético nos diferentes grupos de animais, observou-se que o grupo que recebeu tratamento com veículo apresentou um número de contorções de $25,12 \pm 1,07$ e quando os outros grupos de animais foram comparados com este, aqueles que receberam a administração de ioimbina ou ioimbina e clonidina não apresentaram redução significativa, no entanto, os grupos de animais que receberam clonidina, EE da *C. pyramidalis* ou ioimbina e EE da *C. pyramidalis* mostraram uma redução de 27,87%, 59,71% e 40,80% (P < 0,001), respectivamente, no número de contorções abdominais. Quando a comparação foi feita entre os grupos que receberam as associações de ioimbina com clonidina ou ioimbina com EE da *C. pyramidalis* com os grupos que receberam clonidina ou EE da *C. pyramidalis*, respectivamente, a diminuição do número de contorções abdominais foi de 26,78% (P < 0,001) e 31,94% (P < 0,05) (Figura 22).

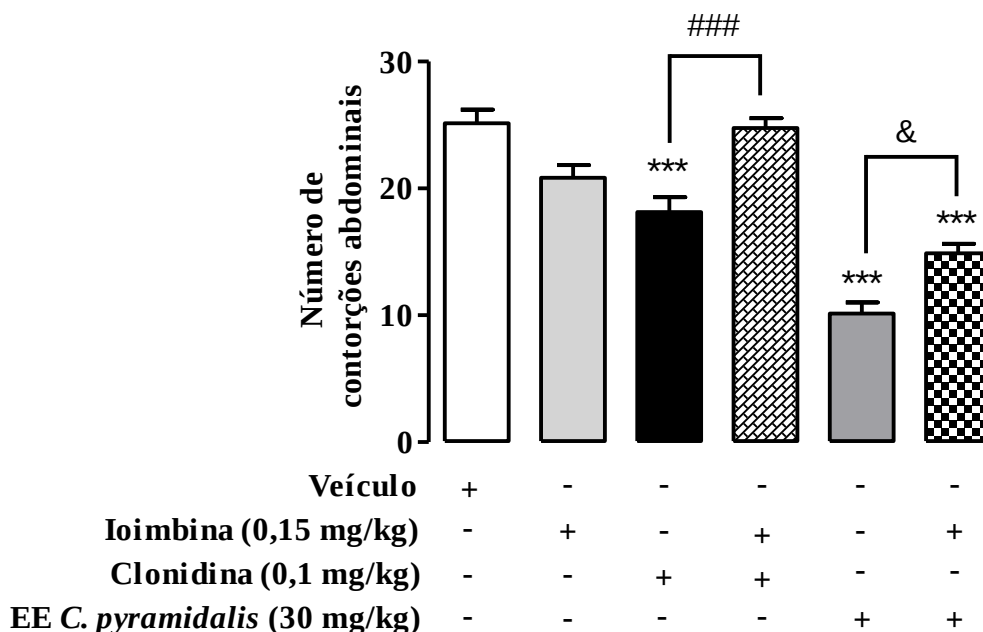


Figura 22: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos α_2 -adrenoceptores no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*. Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), ioimbina (0,15 mg/kg), clonidina (0,1 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (30 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. Os símbolos denotam diferenças estatísticas, *** $P < 0,001$ em relação ao grupo controle (veículo), ### $P < 0,001$ quando comparando os animais que receberam clonidina àqueles que receberam ioimbina e clonidina, & $P < 0,05$ quando comparando os animais que receberam o EE da *C. pyramidalis* àqueles que receberam ioimbina e o EE da *Caesalpinia pyramidalis*. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 8$ animais/grupo).

5.1.8 Participação dos receptores dopaminérgicos

Os animais dos grupos injetados com EE da *C. pyramidalis* e haloperidol mais EE da *C. pyramidalis* apresentaram uma menor contagem no número de contorções abdominais, da ordem de 55,32% e 52,68%, respectivamente, quando comparados aos animais que receberam o veículo em que foram contadas $23,50 \pm 1,03$ contorções abdominais ($P < 0,001$). Não houve alteração no número de contorções abdominais nos animais que receberam o haloperidol quando comparados ao grupo de animais que receberam o veículo (Figura 23).

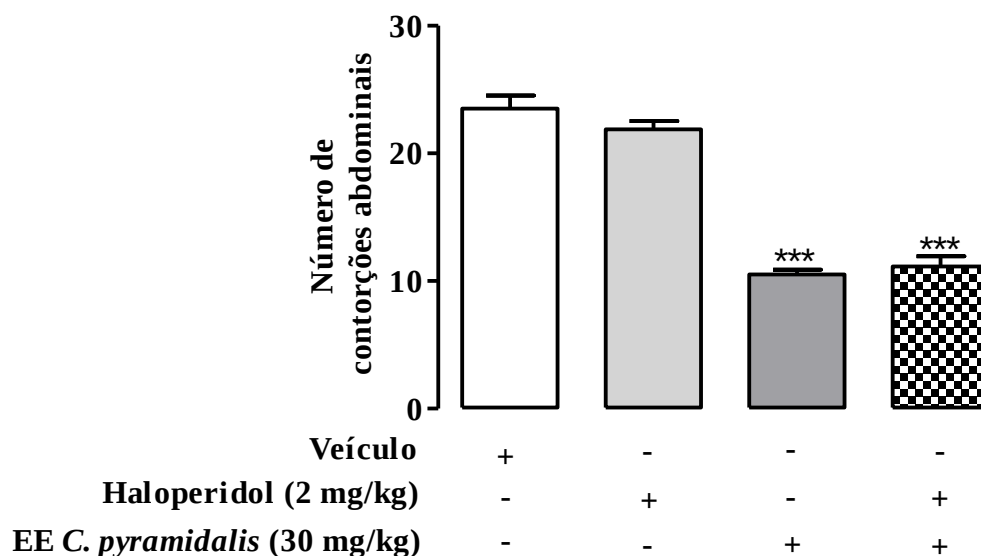


Figura 23: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos receptores dopaminérgicos no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*.

Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), haloperidol (2 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (30 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. Os asteriscos denotam diferenças estatísticas, *** $P < 0,001$ em relação ao grupo controle (veículo). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 8$ animais/grupo).

5.1.9 Participação dos estoques endógenos de aminas bioativas

O número de contorções abdominais foi reduzido quando diferentes grupos de animais foram submetidos à administração de clomipramina (37,79%), EE da *C. pyramidalis* (65,71%) ou a associação reserpina e EE da *C. pyramidalis* (76,19%) comparados ao grupo de animais que receberam o veículo que apresentou $26,25 \pm 1,14$ contorções abdominais ($P < 0,001$). A contagem do número de contorções nos grupos de animais que receberam reserpina ou reserpina mais clomipramina não mostrou redução no efeito nociceptivo provocado pelo ácido acético, quando se comparou aos que receberam o veículo (Figura 24). Observou-se uma redução de 40,62% no número de contorções abdominais no grupo de animais que receberam clomipramina quando a comparação é feita com o grupo que recebeu reserpina e clomipramina ($P < 0,001$).

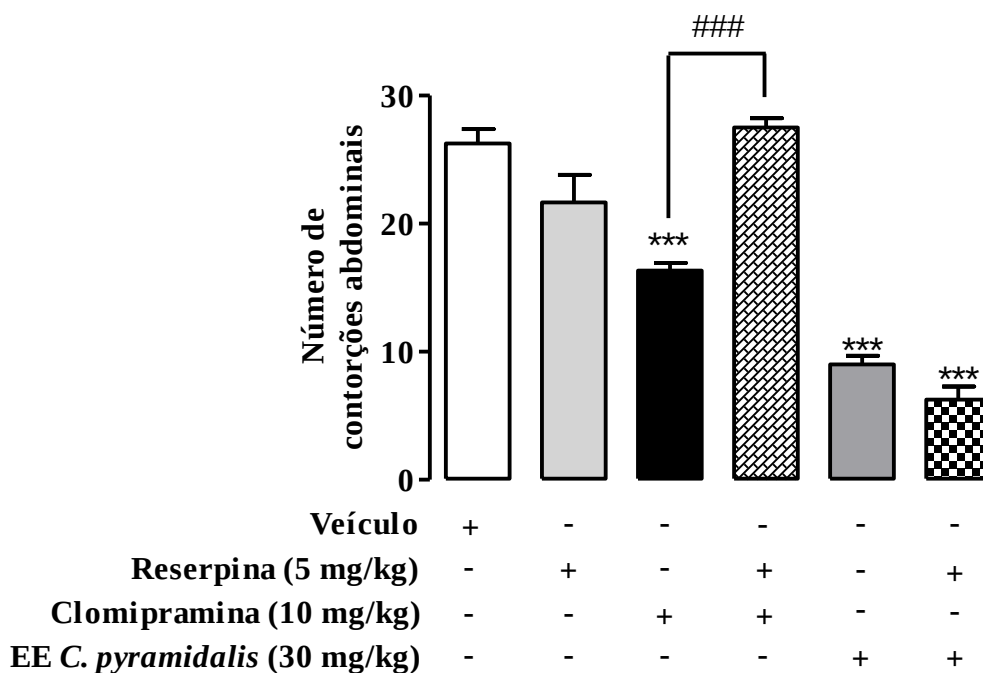


Figura 24: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos estoques endógenos de aminas bioativas no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*. Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), reserpina (5 mg/kg), clomipramina (10 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (30 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais. Cada valor representa a média ± E.P.M. Os símbolos denotam diferenças estatísticas, ***P < 0,001 em relação ao grupo controle (veículo), ###P < 0,001 quando comparando os animais que receberam clomipramina àqueles que receberam reserpina e clomipramina. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni (n = 8 animais/grupo).

5.1.10 Participação dos receptores adenosinérgicos

Foi observada uma redução no número de contorções abdominais nos grupos de animais que receberam adenosina (82,30%), EE da *C. pyramidalis* (65,12%) ou a associação cafeína e EE da *C. pyramidalis* (66,66%) quando foram comparados ao grupo que recebeu veículo, cujos números de contorções foram de $24 \pm 1,03$ ($P < 0,001$); no entanto, não houve alteração quando os grupos que receberam cafeína ou cafeína e adenosina foram comparados com o veículo. Quando o número de contorções abdominais daqueles animais que estavam inseridos no grupo que recebeu adenosina foi comparado ao grupo que recebeu pré-tratamento com cafeína e tratamento com adenosina, observou-se uma redução de 80,11% neste número ($P < 0,001$) (Figura 25).

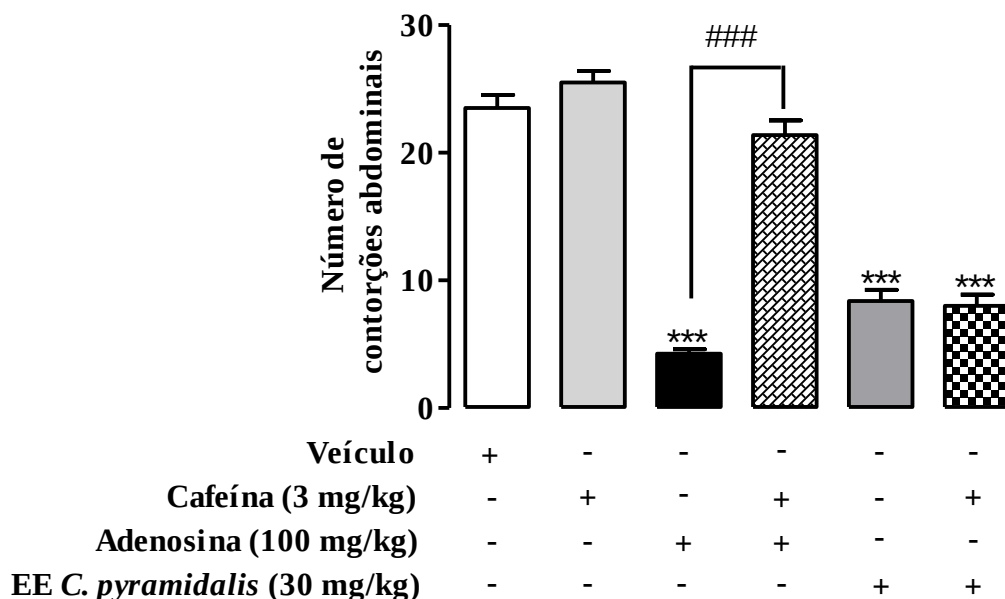


Figura 25: Número de contorções na investigação da participação dos receptores adenosinérgicos no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*. Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), cafeína (3 mg/kg), adenosina (100 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (30 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. Os símbolos denotam diferenças estatísticas, *** $P < 0,001$ em relação ao grupo controle (veículo), ### $P < 0,001$ quando comparando os animais que receberam adenosina àqueles que receberam cafeína e adenosina. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 8$ animais/grupo).

5.1.11 Participação dos receptores gabaérgicos

O número de contorções abdominais foi menor quando os grupos de animais submetidos à administração de diazepam (86,17%) ou EE da *C. pyramidalis* (64,38%) foram comparados ao grupo de animais que receberam o veículo, que apresentou $23,5 \pm 1,03$ contorções abdominais ($P < 0,001$). Os animais que receberam flumazenil, as associações flumazenil e diazepam ou flumazenil e EE da *C. pyramidalis* não apresentaram alteração na contagem das contorções quando comparados com o grupo que recebeu veículo. Quando a média do número de contorções dos animais que receberam diazepam foi comparada àquela dos animais que receberam flumazenil e diazepam, observou-se uma redução de 84,79% ($P < 0,001$) e, quando foi comparada a média do grupo de animais que receberam EE da *C. pyramidalis* àquela do grupo que recebeu EE da *C. pyramidalis* mais flumazenil, foi observada uma redução de 64,56% ($P < 0,001$) (Figura 26).

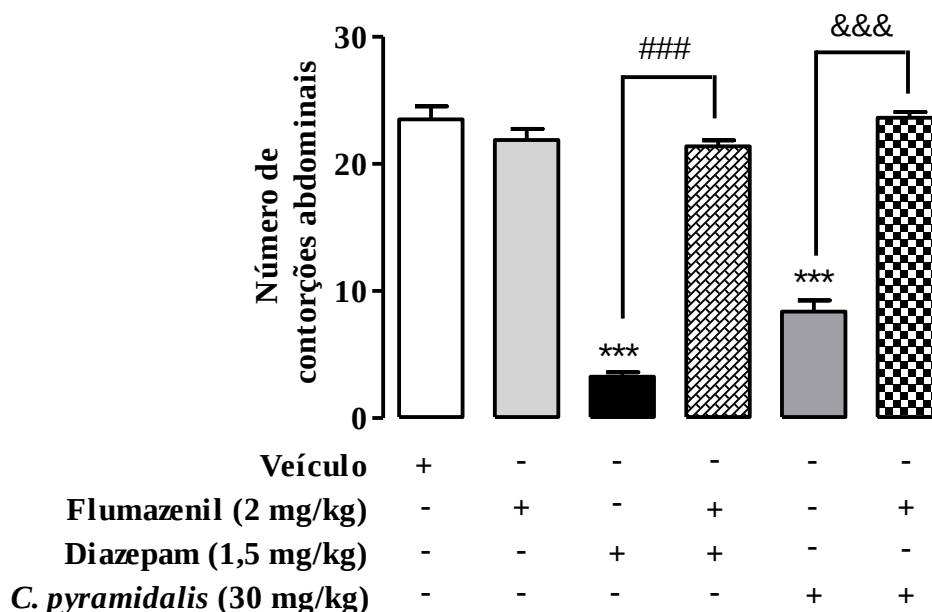


Figura 26: Número de contorções abdominais na investigação da participação dos receptores gabaérgicos no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*. Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), flumazenil (2 mg/kg), diazepam (1,5 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (30 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. Os símbolos denotam diferenças estatísticas, *** $P < 0,001$ em relação ao grupo controle (veículo), ### $P < 0,001$ quando comparado os animais que receberam diazepam àqueles que receberam flumazenil e diazepam, &&& $P < 0,001$ quando comparado aos animais que receberam o EE da *C. pyramidalis* àqueles que receberam flumazenil e EE da *Caesalpinia pyramidalis*. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 8$ animais/grupo).

5.2 Teste da capsaicina

O EE da *C. pyramidalis*, na dose de 100 mg/kg, diminuiu em 37,40% o tempo de lambida/mordida na pata dos camundongos em comparação ao grupo de animais tratados com o veículo que apresentou um tempo de $49,12 \pm 4,66$ s, bem como o tratamento dos animais com morfina que mostrou uma redução de 53,44% ($P < 0,05$). Os grupos de animais que receberam o EE da *C. pyramidalis* nas doses de 10 e 30 mg/kg não apresentaram alteração no tempo de lambida/mordida na pata ao se comparar com o grupo que recebeu o veículo (Figura 27).

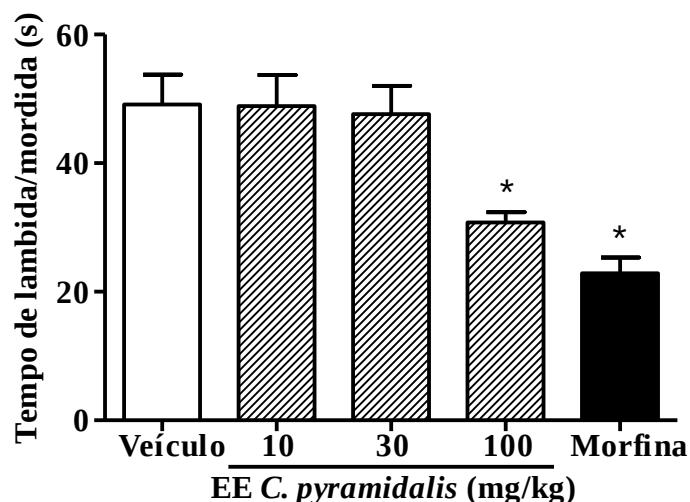


Figura 27: Efeito do EE da *C. pyramidalis* na nocicepção induzida por capsaicina.

Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), morfina (3 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (10, 30 e 100 mg/kg). Posteriormente, foi administrada capsaicina (20 μ L, 1,6 μ g/pata) na pata posterior direita. O tempo que o animal passou lambendo e/ou mordendo sua pata foi cronometrado. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. Os asteriscos denotam diferenças estatísticas, * $P < 0,05$ em relação ao grupo controle (veículo). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 8$ animais/grupo).

5.3 Teste do glutamato

O tempo de lambida/mordida na pata foi menor, de maneira dose-dependente, em 23,75% após a administração do EE da *C. pyramidalis* na dose de 10 mg/kg ($P < 0,01$), em 49,17% na dose de 30 mg/kg e 72,75% na dose de 100 mg/kg ($P < 0,001$) quando comparada à resposta dos animais que receberam apenas o veículo, que apresentou um tempo de lambida/mordida de $42,40 \pm 2,76$ s. O grupo de animais que recebeu morfina, na dose de 3 mg/kg, apresentou redução de 77,36% no tempo ($P < 0,001$) quando comparado ao grupo de animais que receberam o veículo (Figura 28).

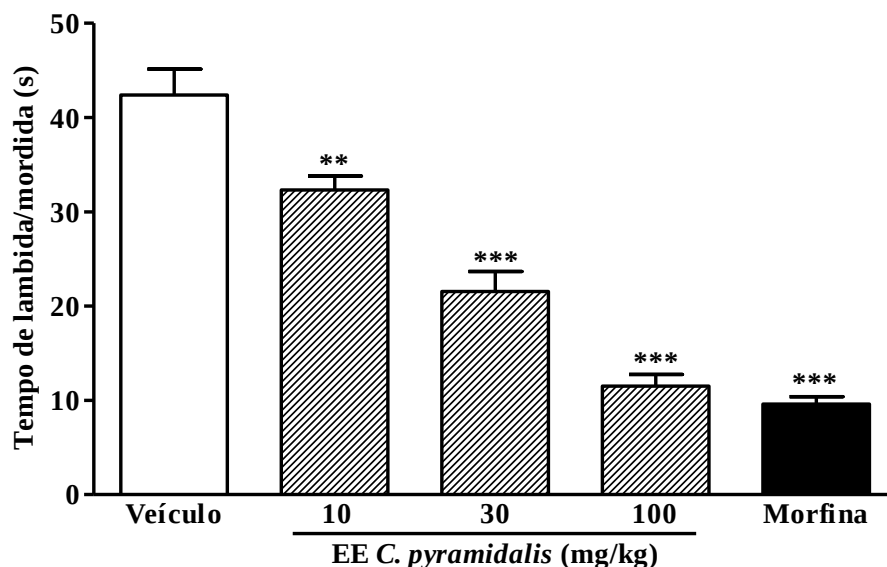


Figura 28: Efeito do EE da *C. pyramidalis* na nocicepção induzida por glutamato.

Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), morfina (3 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (10, 30 e 100 mg/kg). Posteriormente, foi administrado glutamato (20 μ L, 20 μ mol/pata) na pata posterior direita. O tempo que o animal passou lambendo e/ou mordendo sua pata foi cronometrado. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. Os asteriscos denotam diferenças estatísticas, ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ em relação ao grupo controle (veículo). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 8$ animais/grupo).

5.4 Determinação dos níveis de glicemia

Os níveis de glicemia dos animais que receberam EE da *C. pyramidalis* não apresentou alteração quando foram comparados aos níveis daqueles animais que receberam veículo, $107,00 \pm 2,70$ mg/dL e $106,50 \pm 3,70$ mg/dL, respectivamente (Figura 29).

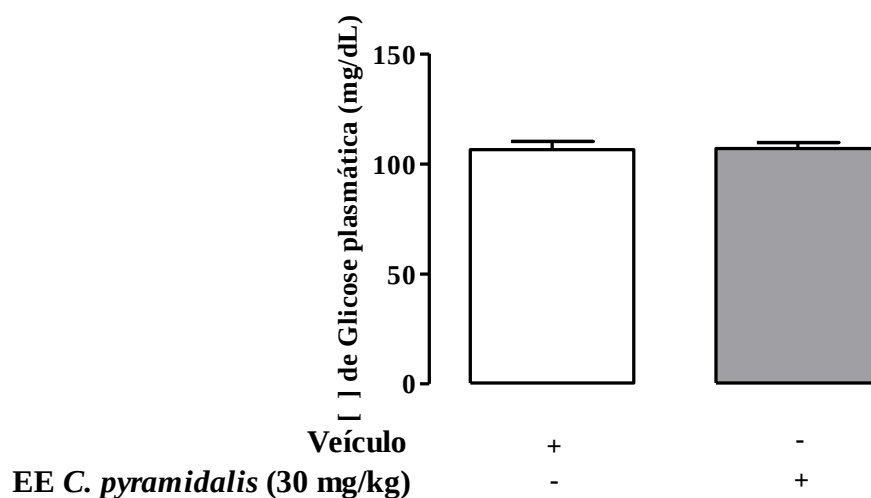


Figura 29: Concentração de glicemia em camundongos submetidos ao teste das contorções abdominais na investigação da participação dos canais de K⁺ sensíveis ao ATP no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*. Grupos de camundongos foram pré-tratados com o veículo (Tween 80 a 0,2%), glibenclamida (10 mg/kg) ou extrato etanólico (EE) da *Caesalpinia pyramidalis* (30 mg/kg). Posteriormente, foi administrado ácido acético (0,6%, 0,1 mL/10 g) para o teste das contorções abdominais e 6 h após, foi coletado sangue venoso caudal para determinação dos níveis de glicemia. Cada valor representa a média $\pm$ E.P.M. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni ($n = 8$ animais/grupo).

5.4 Sumário dos resultados obtidos neste estudo

A tabela 1 mostra o resumo dos dados obtidos na investigação dos mecanismos de ação antinociceptiva do EE da *C. pyramidalis*.

Tabela 1. Resumo da participação de diferentes sistemas fisiológicos no efeito antinociceptivo do extrato etanólico da *Caesalpinia pyramidalis*.

Mecanismo investigado	Participação
L-arginina/NO	✓
NO/GMPc	✓
Canais de K ⁺ -ATP	✓
Receptores colinérgico-muscarínico	✓
α ₁ -adrenorreceptores	A
α ₂ -adrenorreceptores	✓
Receptores dopaminérgicos	A
Reservas de aminas Bioativas	A
Receptores adenosinérgicos	A
Receptores gabaérgicos	✓
Capsaicina	✓
Glutamato	✓

O envolvimento do EE da *C. pyramidalis* sobre o efeito antinociceptivo está indicada conforme segue: (✓) presença ou (A) ausência da participação nas doses utilizadas. NO = óxido nítrico; GMPc = guanosina monofosfato cíclico; ATP = adenosina trifosfato.

6 DISCUSSÃO

Em estudos de *screening* farmacológico realizados previamente, nosso grupo de pesquisa mostrou que o extrato etanólico (EE) da *C. pyramidalis* possui evidente atividade antinociceptiva, em diferentes modelos experimentais, nos quais foram apresentados que em ambas as fases do teste da formalina, no teste das contorções abdominais e no teste da placa quente em camundongos, necessitando assim, diante destes achados, de continuidade dos estudos e de evidências dos mecanismos de ação antinociceptiva do extrato da planta. Além disso, o EE da *C. pyramidalis* apresentou em menor evidência, efeito anti-inflamatório nos modelos de edema de pata em ratos e peritonite em camundongos (SANTOS et al., 2011).

O EE da *C. pyramidalis* também apresentou inibição da peroxidação lipídica provocada pelo ácido tiobarbitúrico nas concentrações de 100 e 1000 µg/mL equivalente ao antioxidante padrão, vitamina C (SANTOS et al., 2011). Muitas são as evidências de que a produção de radicais livres no sítio inflamatório contribui para ocasionar dano tecidual e estímulo nociceptivo (ROKYTA et al., 2003). Logo, estes dados contribuem para embasar o envolvimento do papel redox-protetor do EE da *C. pyramidalis* no seu efeito antinociceptivo. A presença de metabólitos secundários, como os flavonóides, está envolvida no efeito redox-protetor da célula (BOLIGON et al., 2009).

Achados de uma prospecção fitoquímica preliminar realizada por Santos et al. (2011) revelaram a presença de flavonóides, taninos, saponinas, esteroides, triterpenos e saponinas no EE da *C. pyramidalis*. Santana et al. (2012) sugeriram a presença do flavonóide rutina, comparando-se a padrões, no EE da *C. pyramidalis*, pela metodologia de cromatografia líquida de alta eficiência. Os flavonóides, como as monohidroxiavonas, monometoxiavonas e uma série de di-idroxiavonas, têm sido relatados pela sua potente ação antinociceptiva (GIRIJA; REDDY; VISWANATHAN, 2002; VIDYALAKSHMI et al., 2010), e são encontrados em muitas espécies de plantas e em extratos etanólicos, como foi encontrado por Lapa et al. (2009) como a *Polygala paniculata*.

Estudos prévios mostraram que a rutina reduziu a nocicepção induzida por glutamato na pata de camundongos (LAPA et al., 2009), apresentou ação inibitória sobre a expressão da sintase de óxido nítrico induzida (iNOS) em cultura de macrófagos (OLSZANECKI et al., 2002), mostrou-se potente agente antinociceptivo central e

periférico quando os receptores opióides foram ativados (SELVARAJ et al., 2014), diminuiu a dor neuropática periférica crônica e a iNOS no corno dorsal da medula espinhal nos estudos de Azevedo et al. (2013) e tem habilidade de produzir efeito antinociceptivo por inibir as vias da COX e da lipoxigenase (LOX). Estudo recente demonstra que a rutina produz efeitos antinociceptivos em ratos envolvendo modulação central do circuito descendente da substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (vlPAG), parcialmente mediado por um mecanismo opioidérgico (Hernandez-Leon et al., 2015). No entanto, não se pode atribuir todo, mas sim em parte, o efeito antinociceptivo nem o mecanismo de ação do EE da *C. pyramidalis* somente à presença da rutina em sua composição, pois outros compostos estão presentes e precisariam ser identificados e analisados para tal direcionamento.

Na avaliação da atividade antinociceptiva, a maior dose utilizada nos experimentos de Santos et al. (2011) e Santana et al. (2012), que foi a dose de 400 mg/kg do EE da *C. pyramidalis*, não altera a atividade locomotora de camundongos no teste da barra giratória (rota-rod) nem no teste do campo aberto, diferentemente dos animais tratados com diazepam, o que exclui, portanto, a possibilidade do extrato provocar redução nos movimentos estereotipados de nocicepção por causar depressão no sistema nervoso central.

Para fins dos estudos do mecanismo de ação antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, foram necessários novos testes para a escolha da dose que foi utilizada nos experimentos, pois todas as doses utilizadas para a realização dos testes preliminares anti-inflamatório e antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, nos estudos de Santos et al. (2011), que foram 100, 200 e 400 mg/kg, diminuíram o número de contorções abdominais e o tempo de lambida/mordida na pata no teste da formalina.

Corroborando achados anteriores (Santos et al., 2011), foi observado neste estudo, que de forma dose-dependente, o EE foi capaz de inibir as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético nas doses de 30 e 100 mg/kg, sendo a dose de 30 mg/kg a escolhida para os estudos, por se tratar da menor dose eficaz na redução da nocicepção provocada pelo ácido acético e ser igual ao controle padrão utilizado, o ácido acetilsalicílico.

Foi selecionado o teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, descrito como modelo de dor inflamatória visceral, o qual tem sido utilizado como ferramenta em testes em analgesia/antinocicepção ou anti-inflamatório para novos compostos (COOLIER et al., 1968; TJØLSEN; HOLE, 1997; FERRO et al., 2013;

MANSOURI et al., 2013). Os prótons derivados do ácido acético agem diretamente nos canais iônicos sensíveis a ácido e TRPV1, localizados nas vias aferentes primárias (JULIUS; BASBAUM, 2001). O ácido acético age induzindo a liberação de diferentes mediadores que excitam os nociceptores na cavidade peritoneal de camundongos, como a PG, BK, SP, TNF- α , IL-1 β e IL-8 (IKEDA et al., 2001; RIBEIRO et al., 2000; FENG et al., 2003). Adicionalmente, estas substâncias estimulam os neurônios aferentes primários, aumentando a liberação de aspartato e glutamato no fluido cerebroespinal (FENG et al., 2003; ZHU et al., 2004).

Estudos prévios reportam que os inibidores da NOS reduzem a nocicepção causada pelo ácido acético (LARSON et al., 2000; MEOTTI et al., 2006; CAVALCANTE-SILVA, 2014), corroborando os achados deste estudo. Muitos estudos que buscam investigar o mecanismo de ação de drogas têm mostrado a participação do sistema nitrérgico na transmissão nociceptiva (RIEDEL; NEECK, 2001) e seu papel nos efeitos antinociceptivos (BRITO et al., 2006). Nossos achados indicam que a via da L-arginina/NO está envolvida na antinocicepção causada pelo EE da *C. pyramidalis* visto que o pré-tratamento com o substrato da NOS, L-arginina, reverteu o efeito antinociceptivo produzido tanto pelo EE da *C. pyramidalis* quanto pela L-NOARG, um inibidor da NOS.

Além disso, o presente estudo investigou o envolvimento da via do GMP cíclico na atividade antinociceptiva do EE da *C. pyramidalis* e foi observado que houve um incremento no efeito antinociceptivo após o pré-tratamento com azul de metileno, um inibidor não seletivo do óxido nítrico/guanilato ciclase (ABACIOGLU et al., 2000), o que indica que há participação da via do GMP cíclico na ação antinociceptiva do EE da *C. pyramidalis*. Quando o azul de metileno foi administrado nos animais, foi observada redução significativa no número de contorções abdominais quando foi comparado com os animais que receberam o veículo, conforme ação farmacológica esperada.

O NO, que é uma molécula biorregulatória essencial a vários processos fisiológicos (RABELO et al., 2013), aumenta o nível de GMPc cíclico através da ativação da guanilato ciclase solúvel (sGC), que influencia várias funções no organismo, incluindo dor e analgesia (ABACIOGLU et al., 2000). O GMPc atua em canais iônicos de forma direta ou através da ativação das PKs ou fosfodiesterases nos sistemas nervosos central e periférico (XU et al., 2015). Outra importante característica é que o receptor de glutamato, NMDA, pode ser ativado pela NOS, o que leva à produção de NO e consequente manutenção do estado nociceptivo do animal (XU et al.,

2007), fortalecendo a evidência de ação concomitante das vias da L-arginina/NO e NO/GMPc na ação antinociceptiva do EE da *C. pyramidalis*.

Em outro experimento realizado, os resultados indicam que o efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis* pode envolver a participação da via dos canais de K^+ sensíveis ao ATP, porque a glibenclamida, um antagonista dos canais de K^+ sensíveis ao ATP, reverteu parcialmente o efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*. A glibenclamida não exerce efeitos nos outros canais de potássio, como os sensíveis ao Ca^{2+} nem os canais ativados por voltagem (ABACIOGLU et al., 2000); logo, a ação antinociceptiva do EE da *C. pyramidalis* pode estar relacionada à abertura dos canais de K^+ sensíveis ao ATP e subsequente efluxo de íons K^+ com posterior repolarização e/ou hiperpolarização da membrana com redução da sua excitabilidade (PERIMAL et al., 2010). Algumas plantas exercem seu efeito antinociceptivo por sensibilizarem os canais de K^+ sensíveis ao ATP, como a *Zingiber zerumbet* (KHALID et al., 2011) e, quando estes canais estão ativados, medeiam a antinocicepção exercida pelos opióides (RODRIGUES; DUARTE, 2000).

Quando a acetilcolina, agonista colinérgico muscarínico, foi administrada nos camundongos e estes foram submetidos ao teste das contorções abdominais, observou-se redução no número das contorções, que foram revertidas no grupo de animais que receberam a administração do pré-tratamento com atropina, um antagonista não seletivo dos receptores muscarínicos, efeito semelhante ao que aconteceu quando os animais receberam o EE da *C. pyramidalis*, indicando a participação dos receptores muscarínicos no seu efeito antinociceptivo.

A acetilcolina, quando liberada pelos interneurônios colinérgicos espinhais, medeia seus efeitos tanto através dos receptores nicotínicos (ligados a canais iônicos) quanto através dos receptores muscarínicos (JONES; DUNLOP, 2007) que, por sua vez, inibem a liberação do glutamato e do GABA das fibras pré-sinápticas, diminuindo a nocicepção (JONES; DUNLOP, 2007); relevante dado que serve como base para salientar que os diferentes sistemas envolvidos na antinocicepção não agem individualmente durante o controle da nocicepção.

O papel do sistema adrenérgico e, em particular, dos α_2 -adrenoceptores na analgesia tem sido objeto de diversos estudos (PANDURANGAN; KRISHNAPPAN; SUBRAMANIAN, 2014). Evidências clínicas mostram diminuição da dor neuropática por lesão do nervo ou câncer após injeção espinhal de agonistas α_2 -adrenérgicos (HASSEN-BUSCH et al., 2002) e, adicionalmente, a liberação do neurotransmissor

glutamato dos aferentes nociceptivos primários reduz a concentração de agonistas α_2 -adrenérgicos (PAN et al., 2008).

Neste estudo, a ioimbina, um antagonista seletivo dos α_2 -adrenoceptores, reverteu o efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, bem como o efeito antinociceptivo da clonidina, agonista seletivo dos receptores α_2 -adrenérgicos. Portanto, nossos resultados mostram que, ao menos em parte, o EE da *C. pyramidalis* está estimulando α_2 -adrenoceptores, o que explica, parcialmente, seu efeito na nocicepção induzida por glutamato.

Os α_2 -adrenoceptores (2A, 2B e 2C) são densamente localizados nos sistemas nervosos central e periférico, especialmente nas regiões do *locus coeruleus*, neurônios do corno e gânglios da raiz dorsal (PINHEIRO et al., 2014). Em seus estudos, Millan (2002) e Pertovaara (2013) apresentaram que os agonistas α_2 -adrenérgicos promovem uma condição de analgesia, ou seja, agem como atenuantes da dor em animais e em humanos, respectivamente.

A reversão da atividade antinociceptiva do EE da *C. pyramidalis* pela naloxona (SANTOS et al., 2011) e pela ioimbina podem refletir na interação sinérgica entre sistemas opióides e noradrenérgicos no controle da dor (PAN et al., 2008). Estudos mostram que a co-expressão dos receptores opióides e α_2 -adrenérgicos na região do *locus coeruleus* orientam a hiperpolarização via canais de potássio que contribui com a analgesia (FAIRBANKS et al., 2002; STEIN et al., 2009).

Os α_2 -adrenoceptores também são localizados nas fibras aferentes sensíveis à capsaicina e a ação desses receptores pode resultar na supressão noradrenérgica da dor no nível da medula espinhal (CHEN et al., 2007). A reversão do efeito do EE da *C. pyramidalis* pela ioimbina pode explicar o efeito observado no modelo de nocicepção induzido pela capsaicina. Além disso, sugere-se que, por agir estimulando os α_2 -adrenoceptores no *locus coeruleus* e na porção terminal das fibras aferentes, o EE da *C. pyramidalis* e a clonidina podem causar diminuição do glutamato no corno dorsal, inibição dos canais de cálcio nos neurônios simpáticos e estimulação dos canais de potássio (PERTOVAARA, 2013) e inibição da liberação de norepinefrina, glutamato e SP, bem como citocinas pró-inflamatórias (LAVAND'HOMME; ELSENACH, 2003), resultando em seus efeitos antinociceptivos.

A ativação dos receptores 5-HT pode ser mediada pelo aumento da liberação da noradrenalina (ANJANEYULU; CHOPRA, 2006), via de ativação dos receptores α_2 -pós-sinápticos com o uso de agonistas α_2 -adrenérgicos, como a clonidina (MORGADO

et al., 2011; LOPES et al., 2012), podendo aumentar a hiperalgesia abdominal em camundongos pela inibição da condução do impulso da dor (SCHREIBER et al., 2009). Entretanto, não se pode afirmar o envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, pois não foram executados testes específicos para avaliação deste mecanismo de ação.

No nosso estudo, pode-se observar que há participação dos adrenoreceptores α_2 , mas não α_1 , no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, porque não foi observado quando os animais foram pré-tratados com prazosina mais EE da *C. pyramidalis* reversão do efeito, como o que ocorreu com os animais que receberam prazosina mais fenilefrina. Estudos realizados por Pertovaara (2013) mostraram que a administração periférica de agonistas de α_1 -adrenoreceptores induz, como efeito predominante, o agravamento da dor.

Dando continuidade à investigação da participação dos receptores de aminas biogênicas no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, não foi observada a participação dos receptores dopaminérgicos neste efeito nas doses utilizadas, devido ao fato de que o pré-tratamento com haloperidol, um antagonista não-seletivo dos receptores dopaminérgicos, não reverte os efeitos antinociceptivos observados quando os animais foram tratados com o EE da *C. pyramidalis*.

Ainda pouco se sabe sobre a modulação fisiopatológica da transmissão dopaminérgica espinhal, no entanto, é conhecido que estímulos dolorosos agudos podem ser transmitidos via ativação do sistema dopaminérgico descendente pela coluna dorsal (SOUZA et al., 2009). Como os resultados mostram a participação do sistema noradrenérgico, mas não do dopaminérgico, a avaliação da interferência do conteúdo das aminas bioativas foi de fundamental importância para uma investigação mais aprofundada da antinocicepção do EE da *C. pyramidalis* por este mecanismo.

O bloqueio do controle inibitório da nocicepção pelas aminas biogênicas, que compreendem, de uma maneira geral, a noradrenalina, a 5-HT e a dopamina (OCHI; OHKUBO; MUTOH, 2002), promovido quando administrada a reserpina nos animais, ocorreu de maneira diferente quando o EE da *C. pyramidalis* foi administrado, pois não foi observada a reversão do número de contorções abdominais quando os animais receberam o EE da *C. pyramidalis*, diferentemente quando os animais receberam o tratamento com clomipramina, inibidor da receptação neuronal de monoaminas, sugerindo a ocorrência da formação de estoques vesiculares dos neurotransmissores com consequente acúmulo nos neurônios pré-sinápticos. Portanto, podemos inferir que,

de uma maneira geral, a ação antinociceptiva do EE da *C. pyramidalis* não depende de reservas de monoaminas.

Na investigação da participação dos receptores adenosinérgicos no efeito antinociceptivo produzido pelo EE da *C. pyramidalis*, observou-se que, quando os animais receberam o pré-tratamento com cafeína, antagonista não-seletivo dos receptores adenosinérgicos, e tratamento com adenosina, agonista dos receptores adenosinérgicos, puderam reverter o efeito antinociceptivo provocado pela adenosina, conforme ação farmacológica já esperada, mas o mesmo não foi observado quando receberam cafeína mais EE da *C. pyramidalis*, sugerindo, portanto, que os receptores adenosinérgicos não são ativados após administração do EE da *C. pyramidalis* nos camundongos no modelo estudado.

A adenosina é um composto endógeno, que contribui na transmissão da informação da nocicepção, além disso, contribui, sinergicamente, para os efeitos antinociceptivos induzidos por opióides, noradrenalina e 5-HT (SAWYNOK, 1998; LUCHESE et al., 2010). Farmacologicamente, a cafeína bloqueia receptores de adenosina A_1 , A_{2A} , A_{2B} e A_3 , porém com baixa afinidade (SAWYNOK, 2011). A ativação dos receptores de adenosina, particularmente do A_1 , produz antinocicepção pela redução de PGE_2 e ativa a via NO/cGMP/ K_{ATP} na dor aguda, bem com liberação do glutamato, na dor crônica (ZAKARIA et al., 2014).

Outro achado importante do presente estudo está relacionado ao envolvimento da via gabaérgica no efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis*, observado quando os animais que receberam flumazenil mais EE da *C. pyramidalis* reverteram a antinocicepção quando comparado ao grupo de animais que receberam o tratamento com o EE da *C. pyramidalis*, mesmo efeito observado quando os animais receberam o tratamento com diazepam, após pré-tratamento com flumazenil, antagonista não-seletivo dos receptores gabaérgicos.

O sistema gabaérgico tem importante papel na modulação do processo nociceptivo (HAYASHIDA et al., 2008), especialmente nas respostas aguda e crônica ao estímulo nocivo (MILLAN, 2002). A modulação dos receptores GABA ionotrópicos por flavonóides foi estudada em experimentos eletrofisiológicos realizados por Goutman et al. (2003), podendo-se inferir que a presença da rutina no EE da *C. pyramidalis* deve contribuir, em parte, para seu efeito antinociceptivo. No entanto, quando se trata de extrato bruto deve-se considerar a ampla gama de substâncias induzindo ou inibindo, individualmente ou em sinergismo, o efeito observado.

A capsaicina, uma neurotoxina, composto ativo contido na pimenta malagueta (*Capsicum sp.*), estimula os receptores TRPV1, ligantes não seletivos aos canais catiônicos nos neurônios sensoriais primários (CATERINA et al., 1997). A ativação destes receptores pela capsaicina resulta no aumento da liberação sináptica de glutamato e neuropeptídeos dos terminais centrais e periféricos dos neurônios que podem contribuir para o processo nociceptivo (FERRINI et al., 2007; AFRAH et al., 2001; MEDVEDEVA; KIM; USACHEV, 2008). O envolvimento dos receptores TRPV1 na nocicepção aguda mostra-se importante quando se trata de dor inflamatória. A ativação do TRPV1 orienta um sinal eferente aos terminais periféricos via secreção de agentes inflamatórios, causando inflamação neurogênica local (JULIUS; BASBAUM, 2001).

A resposta na pata dos animais no teste neurogênico induzido pela capsaicina deve ser similar à primeira fase do teste da formalina (BRESCIANI et al., 2003), corroborando o que foi observado, em estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa (SANTOS et al., 2011), em que a administração do EE da *C. pyramidalis* promoveu antinocicepção na fase neurogênica no teste da formalina em camundongos, com o envolvimento dos terminais nociceptivo, e na fase inflamatória, com a inibição dos mecanismos centrais e periféricos.

Nosso estudo mostra que a administração oral da dose de 100 mg/kg do EE da *C. pyramidalis* produziu redução parcial, porém significativa, da resposta nociceptiva causada pela injeção subplantar de capsaicina na pata dos camundongos, mostrando que o efeito antinociceptivo do extrato pode ser regulado pela ativação dos receptores TRP, reduzindo a inflamação neurogênica e a liberação de glutamato, o que contribui na modulação da transmissão nociceptiva. A injeção subcutânea de capsaicina, uma neurotoxina extraída da pimenta do gênero *Capsicum*, é capaz de promover dor de origem neurogênica através da ativação seletiva das fibras aferentes primárias do tipo C, induzindo a liberação espinhal de glutamato e substância P, com o envolvimento de NO (SAKURADA et al., 2003).

O EE da *C. pyramidalis* também produziu efeito antinociceptivo, de maneira dose-dependente, no teste da nocicepção induzida pelo glutamato nos camundongos nas três doses testadas. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório no sistema nervoso central (CODERRE, 1993) e vários estudos têm mostrado que a resposta nociceptiva induzida pelo glutamato é mediada pelos receptores glutamatérgicos ionotrópicos ou metabotrópicos NMDA e não-NMDA, bem como substâncias

relacionadas ou não ao NO nos sistemas nervosos central ou periférico, como PGE₂ e cininas (FUNDYTUS, 2001; BEIRITH et al., 2002; SAKURADA et al., 2003).

Estudos têm salientado que os receptores dos aminoácidos excitatórios estão envolvidos na transmissão nociceptiva aferente primária, tanto para o desenvolvimento quanto para a manutenção da nocicepção (COGGESHALL; CARLTON, 1997; FERREIRA; SANTOS; CALIXTO, 1999). Sendo assim, pode-se inferir que o efeito antinociceptivo produzido pelo extrato utilizado pode ser dependente de sítios de ação centrais ou periféricos. A supressão da nocicepção induzida pelo glutamato pelo tratamento com o extrato pode ser associada com a interação entre o sistema glutamatérgico e/ou inibição da produção de NO (GUGINSKI et al., 2009). Nossos achados corroboraram com o fato de que o glutamato é o principal neurotransmissor nociceptivo, mostrando estar envolvido de maneira sinérgica com outros sistemas de controle da nocicepção.

Sabe-se que a administração de glicose, por si só, produz efeitos antinociceptivos em roedores (YAMAMOTO; FOULDS-MATHES; KANAREK, 2014). Foi constatado que, nos experimentos de Suri e Mathur (2010), ratos que consumiram soluções com excesso de açúcares foram mais sensíveis aos efeitos analgésicos dos agonistas opióides. Por outro lado, hipoglicemia grave pode ser particularmente prejudicial aos efeitos no SNC. Concentrações plasmáticas de glicose em torno de 55 mg/dL podem causar disfunções cognitivas, como alterações no eletroencefalograma; valores próximos a 40 mg/dL podem provocar sonolência e comportamentos anormais e, valores próximos a 30 mg/dL, se prolongado, podem causar danos neurológicos irreversíveis, convulsões e morte (ALSAHLI; GERIH, 2013). Neste estudo, para descartar possíveis ações do EE da *C. pyramidalis* nos níveis plasmáticos de glicose dos camundongos, foram mensurados os níveis de glicose no sangue. Foi mostrado que o efeito antinociceptivo do EE da *C. pyramidalis* não está relacionado a mudanças nos níveis de glicose.

O presente estudo confirma que a administração oral do EE da *C. pyramidalis* apresenta inibição, de maneira dose-dependente, da resposta comportamental à nocicepção em camundongos e elucida, ao menos em parte, o mecanismo de ação pelo qual este extrato age no organismo do animal. Existe necessidade de continuidade do estudo do mecanismo de ação antinociceptiva do EE da *C. pyramidalis*, investindo no estudo da via serotoninérgica e expressão da proteína c-FOS nas diferentes áreas cerebrais e na medula espinhal, além de investigar a toxicidade e o perfil antioxidante

do EE da *C. pyramidalis*. No entanto, por faltar especificidade e agir em vários receptores e sistemas, pode promover mais efeitos colaterais, por outro lado pode atuar em dores crônicas, como a dor provocada pelo câncer.

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que os mecanismos de ação pelos quais o extrato etanólico da *Caesalpinia pyramidalis* exerce seu efeito antinociceptivo envolvem, ao menos em parte, diminuição da síntese de óxido nítrico, da atividade do GMP cíclico e da participação dos canais de K^+ sensíveis ao ATP, bem como da regulação dos receptores colinérgicos muscarínicos, dos α_2 -adrenoceptores e dos receptores gabaérgicos, além da diminuição da nocicepção após indução por glutamato e capsaicina.

8 REFERÊNCIAS

ABACIOGLU, N.; TUNCTAN, B.; AKBULUT, E.; CAKICI, I. **Participation of the components of L-arginine/nitric oxide/cGMP cascade by chemically-induced abdominal constriction in the mouse.** *Life Sciences*, v. 67, p. 1127-1137, 2000.

AFRAH, A. W.; STILLER, C. O.; OLGART, L.; BRODIN, E.; GUSTAFSSON, H. **Involvement of spinal N-methyl-D-aspartate receptors in capsaicin-induced *in vivo* release of substance P in the rat dorsal horn.** *Neuroscience Letters*, v. 316, p. 83-86, 2001.

AGRA, M. F.; BARACHO, G. S.; NURIT, K.; BASÍLIO, I. J. L. D.; COELHO, V. P. M.. **Medical and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 111, p. 383-395, 2007.

AHERN, G. P.; BROOKS, I. M.; MIYARES, R. L. WANG, X. B. **Extracellular cations sensitize and gate capsaicin receptor TRPV1 modulating pain signaling.** *Journal of Neuroscience*, v. 25, n. 21, p. 5109-5116, 2005.

ALBUQUERQUE, U .P. **Re-examining hypotheses concerning the use and knowledge of medicinal plants: a study in the caatinga vegetation of NE Brazil.** *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, v. 2, n. 30, 2006.

ALMEIDA, C. F. C. B. R.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P.; MAIS, M. B. **Medicinal plants popularly used in the Xingó region – a semiarid location in the northeastern Brazil.** *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, v. 2, n. 15, p. 1-7, 2006.

ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. **Plants with central analgesic activity.** *Phytomedicine*, v. 8, p. 310-322, 2001.

ALMEIDA, T. F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. **Afferent pain pathways: a neuroanatomical review.** *Brain Research*, v. 1000, p. 40-56, 2004.

ALSAHLI, M.; GERICH, J. E. **Hypoglycemia.** *Endocrinology Metabolisms Clinics of North America*, v. 42, p. 657-676, 2013.

ALVES, E. U.; CARDOSO, E. A.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, A. U.; GALINDO, E. A.; JUNIOR, J. M. B. **Superação da dormência em sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul.** *Revista Árvore*, v. 31, n. 3, p. 405-415, 2007.

ALVIANO, W. S.; ALVIANO, D. S.; DINIZ, C. G.; ANTONIOLLI, A. R.; ALVIANO, C. S.; FARIAS, L. M.; CARVALHO, M. A.; SOUZA, M. M.; BOLOGNESE, A. M. **In vitro antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine.** *Archives of Oral Biology*, v. 56, n. 6, p. 545-552, 2008.

ANJANEYULU, M.; CHOPRA, K. **Possible involvement of cholinergic and opioid receptor mechanisms in fluoxetine mediated antinociception response in streptozocin-induced diabetic mice.** *European Journal of Pharmacology*, v. 538, p. 80-84, 2006.

ARCHANA, P.; TANDAN, S. K.; CHANDRA, S.; LAL, J. **Antipyretic and analgesic activities of *Caesalpinia bonducella* seed kernel extract.** *Phytotherapy Research*, v. 19, n. 5, p. 376-381, 2005.

ARRUDA, J. L.; SWEITZER, S.; RUTKOWSKI, M. D.; DELEO, J. A. **Intrathecal anti-IL-6 antibody and IgG attenuates peripheral nerve injury-induced mechanical allodynia in the rat: possible immune modulation in neuropathic pain.** *Brain Research*, v. 879, p. 216-225, 2000.

BADAMI, S.; MOORKATH, S.; RAI, S. R.; KANNAN, E.; BHOJRAJ, S. **Antioxidant activity of *Caesalpinia sappan* heartwood.** *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 26, n.11, p. 1634-1637, 2003.

BAHIA, M. V.; SANTOS, J. B.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. **Biflavonoids and other phenolics from *Caesalpinia pyramidalis* (Fabaceae).** *Journal of Brazilian Chemistry Society*, v. 16, n. 6B, p. 1402-1405, 2005.

BAHLLA, S.; ALI, I.; ANDURKAR, S. V.; GULATI, A. **Cenchaquin antinociception in mice is mediated by α_{2A} - and α_{2B} - but not α_{2C} -adrenoceptors.** *European Journal of Pharmacology*, v. 715, p. 328-336, 2013.

BASSANEZI, B. S. B.; OLIVEIRA-FILHO, A. G. D. E. **Analgesis pós-operatória.** *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia*, , v. 33, n. 2, p. 116-122, 2006.

BLALACK, J . E. **Human leukocyte interferon: Structural and biological relatedness to adrenocorticotrophic hormone and endorphins.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 77, n. 10, p. 5972-5974, 2010.

BASBAUM, A. I.; BAUTISTA, D. M.; SCHERRER, G.; JULIUS, D. **Cellular and Molecular Mechanisms of Pain.** *Cell*, v. 139, p. 267-284, 2009.

BEIRITH, A.; SANTOS, A. R. S.; RODRIGUES, A., L. S.; CRECZYNSKY-PASA, T.; CALIXTO, J. B. **Spinal and supraspinal antinociceptive action of didypone in formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action.** *European Journal of Pharmacology*, v. 345, p. 233-245, 1998

BEIRITH, A.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. **Mechanisms underlying the nociception and paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw.** *Brain Research*, v. 924, p. 219-228, 2002.

BOLIGON, A. A.; PEREIRA, R. P.; FELTRIN, A. C.; MACHADO, M. M.; JANOVIK, V.; ROCHA, J. B. T.; ATHAYDE, M. L. **Antioxidant activities of flavonol derivates from leaves and stem bark of *Scutia buxifolia* Reiss.** *Bioresource Technology*, v. 100, p. 6592-6598, 2009.

BRASIL. **Boletim Quadrimestral sobre benefícios por incapacidade.** Ministério da Previdência Social, Brasília, v.1, 24 abr, p.12, 2014.

BRASIL. Decreto-Lei nº 5813 de 22 de junho de 2006. **Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências.** Diário Oficial da União, Brasília, v. 126, n. 119, 23 jun., seção 1, pt. 1, p. 1. 2006a.

BRASIL. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS.** MINISTÉRIO DA SAÚDE. Brasília: MS, v. 1, 92p. 2006b.

BRESCIANI, L. F. V.; PRIEBE, J. P.; YUNES, R. A.; DAL-MAGRO, J. DELLE-MONACHE, F.; DE CAMPOS, F.; SOUZA, M. M.; CECHINEL-FILHO. **Pharmacological and phytochemical evaluation of *Adiantum cuneatum* growing in Brazil.** *Zeitschrift fur Naturforschung Section b-a journal of Chemical Sciences*, v. 58c, p. 191-194, 2003.

BRITO, G. A. C.; SACHS, D.; CUNHA, F. Q.; VALE, M. I.; LOTUFO, C. M. C.; FERREIRA, S. H.; RIBEIRO, R. A. **Peripheral antinociceptive effect of pertussis toxin activation of the arginine/NO/cGMP/ATP-sensitive K^+ channels pathway.** *European Journal of Neuroscience*, v. 24, p. 1175-1181, 2006.

BROADBEAR, J. H.; NEGUS, S. S.; BUTELMAN, E. R.; COSTA, B. R.; WOODS, J. H. **Differential effects of systemically administered nor-binaltorphimine (nor-BNI) on k-opioid agonists in mouse writhing assay.** *Psychopharmacology*, v. 15, p. 311-319, 1994.

BROTON, J. G.; ROSENFELD, J. P. **Rostral trigeminal projections signal perioral facial pain.** *Brain Research*, v. 243, p. 295-400, 1982.

BRUERA, E.; PEREIRA, J. **Recent developments in palliative cancer care.** *Acta Oncology*, v. 37, p. 749-757, 1998.

BURNSTOCK, G. **Purinergic signaling: therapeutic potential.** *Anal Real Academy Nactional Pharmacy*, v. 71, p. 283-319, 2005.

CALIXTO, J. B.; BEIRITH, A.; FERREIRA, J.; SANTOS, A. R. S.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. **Naturally-occurring antinociceptive substances from plants: a review.** *Phytotherapy Research*, v.14, p. 1-18, 2000.

CALIXTO, J. B. **Efficacy, safety, quality, control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents).** *Brazilian Journal of Medicinal Biology Research*, v. 33, p. 179-189, 2000.

CAMARGO, E. A.; ZANONI, C. L.; TOYAMA, M. H.; MUSCARÁ, M. N.; DOCHERTY, R. J.; COSTA, S. K. P. **Abdominal hyperalgesia in secretory phospholipase A₂-induced rat pancreatitis: distinct roles of NK₁ receptors.** *European Journal of Pain*, v. 15, p. 900-906, 2011.

CARTAXO, S. L.; SOUZA, M. M. A.; ALBUQUERQUE, U. P. **Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 131, p. 326-342, 2010.

CARVALHO, A. C. B., BALBINO, E. E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J. P. S. **Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, p. 314-319, 2008.

CATERINA, M. J.; SCHUMACHER, M. A.; TOMINAGA, M.; ROSEN, T. A.; LEVINE, J. D.; JULIUS, D. **The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway.** *Nature*, v. 389, n. 6653, p. 816-824, 1997.

CAVALCANTE-SILVA, L. H. A.; FALCÃO, M. A. P.; VIEIRA, A. C. S.; VIANA, M. D. M.; ARAUJO-JUNIOR, J. X.; SOUSA, J. C. F.; SILVA, T. M. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; NOEL, F.; MIRANDA, G. E. C.; SANTOS, B. V. O.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S. **Assessment of mechanisms involved in antinociception produced by the alkaloid caulerpine.** *Molecules*, v. 19, p. 14699-14709, 2014.

CAVALCANTI, I. L.; MADDALENA, M. L. **Dor.** *Saerj*, p.299, 2003.

CHEN, S. R.; PAN, H. M.; RICHARDSON, T. E.; PAN, H. L. **Potentiation of spinal alpha-2-adrenoceptor analgesia in rats deficient in TRPV1-expressing afferent neurons.** *Neuropharmacology*, v. 52, p. 1624-1630, 2007.

CHUANG, H. H.; PRESCOTT, E. D.; KONG, H.; SHIELDS, S.; JORDT, S. E.; BASBAUM, A. I.; CHAO, M. V.; JULIUS, D. **Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P2-mediated inhibition.** *Nature*, v. 411, n. 6840, p. 957-962, 2001.

CINP – CENTRO NORDESTINO DE INFORMAÇÕES SOBRE PLANTAS.
www.cnip.org.br, 2011. Disponível em:
http://www.cnip.org.br/banco_img/Catinga%20de%20Porco/caesalpiniapyramidalistul3.html. Acesso em 16 de Abril de 2015.

COBACHO, N.; CALLE, J. L.; PAÍNO, C. L. **Dopaminergic modulation of neurophatic pain: analgesia in rats by a D2-type receptor agonist.** *Brain Research Bulletin*, v. 106, p. 62-71, 2014.

CODERRE, T. J. **The role of excitatory amino acid receptors and intracellular messengers in persistent nociception after issue injury in rats.** *Molecular Neurobiology*, v. 7, p. 229-246, 1993.

COGGESHALL, R. E.; CARLTON, S. M. **Receptor localization in the mammalian dorsal horn and primary afferent neurons.** *Brain Research Review*, v. 24, p. 28-66, 1997.

COOLIER, H. O. J.; DINNEN, J. C.; JOHNSON, C. A.; SCHNEIDER, C. **The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse.** *British Journal of Pharmacology and Chemoterapy*, v. 32, p. 295-310, 1968.

COSTIGAN, M.; WOLG, C. J. **Pain: molecular mechanisms.** *Journal of Pain*, v.1, p. 35-44, 2000.

CUNHA, T. M.; DAL-SACO, D.; VERRI-JUNIOR, W. A.; GUERRERO, A. T.; SOUZA, G. R.; VIEIRA, S. M.; LOTUFO, C. M.; NETO, A. F.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. **Dual role of hydrogen sulfide in mechanical inflammatory hypernociception.** *European Journal of Pharmacology*, v. 590, p.127-135, 2008.

DAENINCK, P. J.; BRUERA, E. **Opioid use in cancer pain: is a more liberal approach enhancing toxicity?** *Acta Anaesthesiology Scandinavian*, v. 43, p. 924-938, 1999.

DE SOUZA, M. M.; PERERIRA, M. A.; ARDENGHI, J. V.; MORA, T. C.; BRESCIANI, L. F.; YUNES, R. A.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL-FILHO, V. **Filicene obtained from *Adiantum cuneatum* interacts with the cholinergic, dopaminergic, glutamatergic, GABAergic, and tachykinergic systems to exert antinociceptive effect in mice.** *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 93, p. 40-46, 2009.

DINIZ, P. B.; RIBEIRO, A. R.; ESTEVAM, C. S.; BANI, C. C.; THOMAZZI, S. M. **Possible mechanisms of action of *Caesalpinia pyramidalis* against ethanol-induced gastric damage.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 168, p. 79-86, 2015.

DRAY, A.; PERKINS, M. **Bradykinin and inflammatory pain.** *Trends in Neuroscience*, v. 16, p. 99-104, 1993.

DREWES, A. M. **The physiology of pain.** *Ugeskrift for Laeger*, v. 168, n. 20, p. 1941-1943, 2006.

FAIRBANKS, C. A.; STONE, L. S.; KITTO, K. F.; NGWYEN, H. O.; POSTHUMUS, I. J.; WILCOX, G. L. **α_2 -adrenergic receptors mediate spinal analgesia and adrenergic-opioid synergy.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 300, p 282-290, 2002.

FENG, Y.; CUI, M.; WILLIS, W. **Gabapentin markedly reduces acetic acid-induced visceral nociception.** *Anesthesiology*, v. 98, p. 729-733, 2003.

FERNÁNDEZ-DUEÑAS, V.; CIRUELA, F.; GANDÍA, J.; SÁNCHEZ, S.; PLANAS, E.; POVEDA, R. **Histamine H3 receptor activation potentiates peripheral opioid-mediated antinociception: substance P role in peripheral inflammation in mice.** *European Journal of Pharmacology*, v. 638, p. 72-77, 2010.

FERREIRA, J.; DA SILVA, G. L.; CALIXTO, J. B. **Contribution of vanilloid receptors to the overt nociception induced by B2 kinin receptor activation in mice.** *British Journal of Pharmacology*, v. 141, n. 5, p. 787-794, 2004.

FERREIRA, J.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. **The role of systemic, spinal and supraspinal L-arginine-nitric oxide-cGMP pathway in thermal hyperalgesia caused by intrathecal injection of glutamate in mice.** *Neuropharmacology*, v. 38, p. 835-842, 1999.

FERRINI, F.; SALIO, C.; VERGNANO, A. M.; MERIGHI, A. **Vanilloid receptor-1 (TRPV1)-dependent activation of inhibitory neurotransmission in spinal substantia gelatinosa neurons of mouse.** *Pain*, v. 129, p. 195-209, 2007.

FERRO, J. N. S.; SILVA, J. P.; CONSERVA, L. M.; BARRETO, E. **Leaf extract from *Clusia nemorosa* induces an antinociceptive effect in mice via a mechanism that is adrenergic systems dependent.** *Chinese Journal of Natural Medicines*, v. 11, n. 4, p. 385-390, 2013.

FUNDYTUS, M. E. **Glutamate receptors and nociception: implications for the drug treatment of pain.** *CNS Drugs*, v. 15, p. 29-58, 2001.

FURST, S. **Transmitters involved in antinociception in the spinal cord.** *Brain Research Bulletin*, v. 48, p. 129-141, 1999.

GANGNON, E.; LEWIS, G. P.; SOTUYO, J. S.; HUGHES, C. E.; BRUNEAU, A. **A molecular phylogeny of *Caesalpinia* sensu lato: Increased sampling reveals new insights and more genera than expected.** *South African Journal of Botany*, v. 89, p. 111-127, 2013.

GAZZANELO, L. R. S.; LUCENA, R. F. P.; ALBUQUERQUE, U. P. **Knowledge and use of medicinal plants by local specialists in an region of Atlantic Forest in the state of Pernambuco (Northeastern Brazil).** *Journal of Ethnobiology*, v. 1, n. 9, P. 1-8, 2005.

GIRIJA, K.; REDDY, K. M.; VISWANATHAN, S. **Antinociceptive effect of synthesized didydroxy flavones, possible mechanism.** *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 40, p. 1314-1316, 2002.

GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY, M. G.; VAN DEN BERG, C. **Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil.** *Megadiversidade*, v. 1, n. 1, 2005.

GONÇALVES, J. C. R.; OLIVEIRA, F. S.; BENEDITO, R. B.; DE SOUSA, D. P.; ALMEIDA, R. N.; ARAUJO, D. A. M. **Antinociceptive activity of (-)-carvone.** *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, v. 31, p. 1017-1020, 2008.

GOUTMAN, J. D.; WAXEMBERG, M. D.; DONATE-OLIVER, F.; POMATA, P. E.; CALVO, D. J. **Flavonoid modulation of ionic currents mediated by GABA(A) and GABA(C) receptors.** *European Journal of Pharmacology*, v. 461, p. 79-87, 2003.

GREGORY, N.; HARRIS, A. L.; ROBINSON, C. R.; DOUGHERTY, P. M.; FUCHS, P. N.; SLUKA, K. A. **An overview of animal models of pain: disease models measures,** *Pain*, v. 14, p 1-26, 2013.

GRUBB, B. D. **Peripheral and central mechanisms of pain.** *British Journal of Anaesthesiology*, v. 81, p. 8-11, 1998.

GUGINSKY, G.; LUIZ, A. P.; SILVA, M. D.; MASSARO, M.; MARTINS, D. F.; CHAVES, J.; MATTOS, R. W.; SILVEIRA, D.; FERREIRA, V. M. M.; CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R. S. **Mechanisms involved in the antinociception caused by ethanolic extract obtained from the leaves of *Melissa officinalis* (lemon balm) in mice.** *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour*, v. 93, p. 10-16, 2009.

HAANPÄÄ, M.; TREEDE, R. **Diagnosis and classification of neuropathic pain.** *Pain*, v. 18, n. 7, p. 1-3, 2010.

HAYASHIDA, K.; OBATA, H.; NAKAJINA, K.; EISENACH, J. C. **Gabapentin acts within the locus coeruleus to alleviate neuropathic pain.** *Anesthesiology*, v. 109, p. 1077-1084, 2008.

HAYES, A. G.; SHEEHAN, M. J.; TYERS, T. B. **Differential sensitivity of models of antinociception in the rat, mouse and guinea-pig to mu-and kappa-opioid receptor agonists.** *British Journal of Pharmacology*, v. 91, p. 823-832, 1987.

HAMURTEKIN, E.; BAGDAS, D.; GURUN, M. S. **Possible involvement of supraspinal opioid and GABA receptors in CPD-choline-induced antinociception in acute pain models in rats.** *Neuroscience Letters*, v. 420, n. 2, p. 116-121, 2007.

HASSEN-BUSCH, S. J.; GUNES, S.; WACHSMAN, S.; WILLIS, K. D. **Intrathecal clonidine in the treatment of intractable pain: a phase I/II study.** *Pain Medicine*, v. 3, 85-91, 2002.

HENSCHKE, N.; KAMPER, S. J.; MAHER, C. G. **The epidemiology and economic consequences of pain.** *Mayo Clinic Proceedings*, v. 90, p. 139-147, 2015.

HERNANDEZ-LEON, A.; FERNÁNDEZ-GUASTI, A.; GONZÁLEZ-TRUJANO, M. E. **Rutin antinociception involves opioidergic mechanism and descending modulation of ventrolateral periaqueductal grey matter in rats.** *European Journal of Pain*, DOI: 10.1002/ejp.720, 2015.

HIRSH, A. T.; GEORGE, S. Z.; ROBINSON, M. E. **Pain assessment treatment disparities: a virtual human technology investigation.** *Pain*, v. 143, p. 106-113, 2009.

HU, H. J.; BHAVE, G.; GEREAU, R. W. T. **Prostaglandin and protein kinase A-dependent modulation of vanilloid receptor function by metabotropic glutamate**

receptor 5: potential mechanism for thermal hyperalgesia. *Journal of Neuroscience*, v. 22, n. 17, p. 7444-7452, 2002.

HWANG, S. W.; CHO, H.; KWAK, J.; LEE, S.Y.; KANG, C. J.; JUNG, J.; CHO, S.; MIN, K. H.; SUH, Y. G.; KIM, D.; OH, U. **Direct activation of capsaicin receptors by products of lipoxygenases: endogenous capsaicin-like substances.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 97, n. 11, p. 6155-6160, 2000.

IASP. **Pain terms: a list with definitions and notes on usage recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy.** *Pain*, v. 6, p. 249-252, 1979.

IKEDA, Y.; UENO, A.; NARABA, H.; OH-ISHI, S. **Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanoids in the acid-induced writhing responses of mice.** *Life Science*, v. 69, p. 2911-2919, 2001.

JAASKELAINEN, S.; RINNE, J. O.; FORSSELL, H.; TENOVUO, O.; KAASINEN, V.; SONNINEN, P.; BERGMAN, J. **Role of the dopaminergic system in chronic pain – a fluorodopa-PET study.** *Pain*, v. 90, p. 257-260, 2001.

JAIN, V.; PAREEK, A.; RATAN, Y.; SINGH, N. **Standardized fruit extract of *Momordica charantia* L protect against vincristine induced neurophatic pain in rats by modulating GABAergic action, antimototoxic, NOS inhibition, anti-inflammatory and antioxidative activity.** *South African Journal of Botany*, v. 97, p. 123-132, 2015.

JERGOVA, S.; HENTALL, I. D.; GAJAVELLI, S.; VARGHESE, M. S.; SAGEN, J. **Intraspinal transplantation of GABAergic neural progenitors attenuates neurophatic pain in rats: A pharmacologic and neurophysiological evaluation.** *Experimental Neurology*, v. 234, p. 39-49, 2012.

JONES, P. G.; DUNLOP, J. **Targeting the cholinergic system as a therapeutic strategy for the treatment of pain.** *Neuropharmacology*, v. 53, p. 197-206, 2007.

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. **Molecular mechanisms of nociception.** *Nature*, v. 413, p. 203-210, 2001.

KARLSTEN, R.; GORDH, T. **An A1-selective adenosine agonist abolishes allodynia elicited by vibration and touch after intrathecal injection.** *Anesthesiology and Analgesy*, v. 80, n. 4, p. 844-847, 1995.

KARLSTEN, R.; POST, C.; HIDE, I.; DALY, J. W. **The antinociceptive effect of intrathecally administered adenosine analogs in mice correlates with the affinity for the A1-adenosine receptor.** *Neurosciences Letters*, v. 121, n. 1-2, p. 267-270, 1991.

KHALID, M. H.; AKHTAR, M. N.; MOHAMAD, A. S.; PERIMAL, E. K.; AKIRA, A.; ISRAF, D. A.; LAJIS, N.; SULAIMAN, M. R. **Anticociceptive effect of the essential oil of *Zingiber zerumbet* in mice: possible mechanisms.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 137, p. 345-351, 2011.

KHASAR, S. G.; WANG, J. F.; TAIWO, Y. O.; HELLER, P. H.; GREEN, P. G.; LEVINE J. D. **Mu-opioid agonist enhancement of prostaglandin-induced hyperalgesia in the rat: A G-protein beta gamma subunit-mediated effect?** *Neuroscience*, v. 67, n. 1, p. 189-195, 1995.

KIDD, B. L.; URBAN, L.A. **Mechanisms of inflammatory pain.** *British Journal of Anaesthesiology*, v.87, p. 3-11, 2001.

KLATT, E.; ZUMBRUNN, T.; BRANDSCHAPP, O.; GIRARD, T.; RUPPEN, W. **Intra- and postoperative intravenous ketamine does not prevent chronic pain: A systematic review and meta-analysis.** *Scandinavian Journal of Pain*, v. 7, p. 42-54, 2015.

KOH, K.; HAMADA, A.; HAMADA, Y.; YANASE, M.; SAKAKI, M.; SOMEYA, K.; NARITA, M.; KUZUMAKI, N.; IKEGAMI, D.; SAKAI, H.; ISEKI, M.; INADA, E.; NARITA, M. **Possible involvement of activated locus coeruleus-noradrenergic**

neurons in pain-related sleep disorders. *Neuroscience Letters*, v. 589, p. 200-206, 2015.

KOHR, D.; SINGH, P.; TSCHERNATSCH, M.; KAPS, M.; POUOKAM, E.; DIENER, M.; KUMMER, W.; BIRKLEIN, F.; VINCENT, A.; GOEBEL, A.; WALLUKAT, G.; BLAES, F. **Autoimmunity against the β_2 adrenergic receptor and muscarinic-2 receptor in complex regional pain syndrome.** *Pain*, v. 152, v. 2690, 2700, 2011.

KONG, J.; LOGGIA, M. C.; ZYLONEY, C.; TU, P.; LAVIOLETTE, P.; GOLLUB, R. L. **Exploring the brain in pain: activations, deactivations and their relation.** *Pain*, v. 148, 1-22, 2010.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; BEER, E. J. **Acetic acid for analgesic screening.** *Federal Proceedings*, v. 18, p. 412-416, 1959.

KUMAZAWA, T. **Primitivism and plasticity of pain – implication of polymodal receptors.** *Neuroscience Research*, v. 32, n. 1, p. 9-31, 1998.

LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J. **Physiology of pain. The veterinary clinics of north America: Small animal practice.** *Philadelphia: Saunders*, v. 30, n. 4, p. 703, 728, 2000.

LAPA, F. R.; GADOTTI, V. M.; MISSAU, F. C.; PIZZOLATTI, M. G.; MARQUES, M. C. A.; DAFRÉ, A. L.; FARINA, M.; RODRIGUES, A. L. S.; SANTOS, A. R. S. **Antinociceptive properties of the hydroalcoholic extract and the flavonoid rutin obtained from *Polygala paniculata* L. in mice.** *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, v. 104, p. 306-315, 2009.

LARSON, A. A.; KOVACS, K. J.; COOPER, J. C.; KITTO, K. F. **Transient changes in the synthesis of nitric oxide result in long-term as well as short-term changes in acetic acid-induced writhing in mice.** *Pain*, v. 86, p. 103-111, 2000.

LAVAND'HOMME, P. M.; ELSENACH, J. C. **Perioperative administration of the alpha2-adrenoceptor agonist clonidine at the site of nerve injury reduces the**

development of mechanical hypersensitivity and modulates local cytokine expression. *Pain*, v. 105, p. 247-254, 2003.

LAWLOR, P. G. **The panorama of opioid-related cognitive dysfunction in patients with cancer.** *Cancer*, v. 94, n. 6, p. 1836-1853, 2002.

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. **Animal models of nociception.** *Pharmacological Reviews*, v. 53, n. 4, p. 597-652, 2001.

LI, A.; WANG, Y.; XIN, G.; LAO, L.; BERMAN, B. M.; ZHANG, R. **Electroacupuncture suppresses hyperalgesia and spinal Fos expression by activating the descending inhibitory system.** *Brains Research*, v. 1186, p. 171-179, 2007.

LIU, L.; ZHU, W.; ZHANG, Z. S.; YANG, T.; GRANT, A.; OXFORD, G.; SIMON, S. A. **Nicotine inhibits voltage-dependent sodium channels and sensitizes vanilloid receptors.** *Journal of Neurophysiology*, v. 91, n. 4, p. 1482-1491, 2004.

LI, W.; SHI, X.; WANG, L.; GUO, T.; WEI, T.; CHENG, K.; RICE, K. C.; KINGERY, W. S.; CLARK, J. D. **Epidermal adrenergic signaling contributes to inflammation and pain sensitization in a rat model of complex regional pain syndrome.** *Pain*, v. 154, p. 1224-1236, 2013.

LOESER, J. D.; TREEDE, R. D. **The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology,** *Pain*, v. 137, p. 473-477, 2008.

LOPES, L. S.; MARQUES, R. B.; FERNANDES, H. B.; PEREIRA, S. S.; AYRES, M. C. C.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C. **Mechanisms of the antinociceptive action of (-) epicatechin obtained from the hydroalcoholic fraction of *Combretum leprosum* Mart & Eic in rodents.** *Journal of Biomedical Science*, v. 19, 68-74, 2012.

LUCHESI, C.; PROGOL, M.; ACKER, C. I.; NOGUEIRA, C. W. **Antinociception effect of butyl (2-phenylethynyl) selenide on formalin test in mice: Evidences for**

the involvement of serotonergic and adenosinergic systems. *European Journal of Pharmacology*, v. 644, p. 49-54, 2010.

MACPHERSON, L. J.; HWANG, S. W.; MIYAMOTO, T.; DUBIN, A. E.; PATAPOUTIAN, A.; STORY, G. M. **More than cool: promiscuous relationships of menthol and the other sensory compounds.** *Molecular and Cellular Neuroscience*, v. 32, n. 4, p. 335-343, 2006.

MALHOTRA, J.; CHAUDHARY, G.; GUPTA, Y. K. **Dopaminergic involvement in adenosine A1 receptor-mediated antinociception in the tail flick latency model in mice.** *Methods Find Experimental Clinical Pharmacology*, v. 22, n. 1, p. 27-41, 2000.

MARKENSON, J. A. **Mechanisms of chronic pain.** *American Journal of Medicine*, v. 101, p. 6S-18S, 1996.

MEDVEDEVA, Y. V.; KIM, M. S.; USACHEV, Y. M. **Mechanisms of prolonged presynaptic Ca²⁺ signaling and glutamate release induced TRPV1 activation in rat sensory neurons.** *Journal of Neurosciense*, v. 28, p. 5295-5311, 2008.

MENSE, S. **Basic neurobiologic mechanisms of pain and analgesia.** *American Journal of Medicine*, v. 75, p. 474-479, 1983.

MEOTTI, F. C.; LUIZ, A. P.; PIZZOLATTI, M. G.; KASSUYA, C. A.; CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R. **Analysis of the antinociceptive effect of the flavonoid myricitrin: evidence for a role of the L-arginine-nitric oxide and protein kinase C pathways.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 316, p. 789-796, 2006.

MERKSEY, H. **Response to editorial: new perspectives on the definition of pain.** *Pain*, v. 66, p. 209, 1996.

MILLAN, M. J. **Descending control of pain.** *Progress Neurobiology*, v. 66, p. 355-474, 2002.

MILLAN, M. J. **The induction of pain: an integrative review.** *Progress of Neurobiology*, v. 57, p. 1-164, 1999.

MILLIGAN, E. D.; O'CONNOR, K. A.; NGUYEN, K. T.; ARMSTRONG, C. B.; TWINING, C.; GAYKEMA, R. P.; HOLGUIN, A.; MARTIN, D. MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. **Intrathecal HIV-1 envelope glycoprotein gp-120 induces enhanced pain state mediated by spinal cord proinflammatory cytokines.** *Journal of Neuroscience*, v. 21, p. 2808-2819, 2001.

MOAYEDI, M.; DAVIS, K. D. **Theories of pain: from specificity to gate control.** *Journal of Neurophysiology*, v. 109, p. 5-12, 2013.

MOHAMAD, A. S.; AKHTAR, M. N.; KHALIVULLA, S. I.; PERIMAL, E. K.; KHALID, M. H.; ONG, H. M.; ZAREEN, S.; AKIRA, A.; ISRAF, D. A.; LAJIS, N.; SULAIMAN, M. R. **Possible participation of nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate/protein kinase C/ATP-sensitive K⁽⁺⁾ channels pathway in the systemic antinociception of Flavokawin B.** *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, v. 108, p. 400–405, 2011.

MONIRUZZAMAN, M.; IMAM, M. A. **Evaluation of antinociceptive effect of methanolic extract of leaves of *Crataeva nurvala* Bunch.-Ham.** *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 14, p. 354-360, 2014.

MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; AMORIM, E. L. C.; STRATTMANN, R. R.; ARAUJO, E. L.; ALBUQUERQUE, V. P. **Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpátricas da caatinga.** *Revista Árvore*, v. 29, n. 6, p. 999-1005, 2005.

MORAES, J. P.; PEREIRA, D. S.; MATOS, A. S.; SANTANA, D. G.; SANTOS, C. A.; ESTEVAM, C. S.; FAKHOURI, R.; LUCCA-JUNIOR, W.; CAMARGO, E. A. **The ethanol extract of the inner bark of *Caesalpinia pyramidalis* (Tul.) reduces urinary bladder damage during cyclophosphamide-induced cystitis in rats.** *The Scientific World Journal*, v. 2013, p.1-8, 2013.

MORGADO, C.; SILVA, L.; PEREIRA-TERRA, P.; TAVARES, I. **Changes in serotonergic and noradrenergic descending pain pathways during painful diabetic neuropathy: The preventive action of IGF1.** *Neurobiology of Disease*, v. 43, n. 1, p. 275-284, 2011.

NASHOLD JR, B. S. **Deafferentation pain in man and animals as it relates to the DREZ operation.** *Canadian Journal of Neurology Science*, v. 15, p 5-9, 1988.

NICHOLSON, B. **Responsible prescribing of opioids for the management of chronic pain.** *Drugs*, v. 63, n. 1, p. 17-32, 2003.

OCHI, T.; OHKUBO, Y.; MUTOH, S. **FR143166 attenuates spinal pain transmission through activation of the serotonergic system.** *European Journal of Pharmacology*, v. 452, p. 319-324, 2002.

OKADA-OGAWA, A.; NAKAYA, Y.; IMAMURA, Y.; KOBAYASHI, M.; SHINODA, M.; KITA, K.; SESSLE, B. J.; IWATA, K. **Involvement of medullary GABAergic system in extraterritorial neuropathic pain mechanisms associated with inferior alveolar nerve transection.** *Experimental Neurobiology*, v. 267, p. 42-52, 2015.

OLSZANECKI, R.; GEBSKA, A.; KOZLOVSKI, V. I.; GRYGLEWSKI, R. J.. **Flavonoids and nitric oxide synthase.** *Journal of Physiology and Pharmacology*, v. 53, n. 4, p. 571-584, 2002.

ORTEGA-LEGASPI, J. M.; LEÓN-OLEA, M.; GORTARI, P.; AMAYA, M. I.; COFFEEN, U.; SIMÓN-ARCEO, K.; PELLICER, F. **Expression of muscarinic M1 and M2 receptors in the anterior cingulate cortex associated with neuropathic pain.** *European Journal of Pain*, v. 14, p. 901-910, 2010.

OVERTON, P. G.; VAUTRELLE, N.; REDGRAVE, P. **Sensory regulation of dopaminergic cell activity: phenomenology, circuitry and function.** *Neuroscience*, v. 282, p. 1-12, 2014.

PANDURANGAN, K.; KRISHNAPPAN, V.; SUBRAMANIAN, V.; SUBRAMANYAN, R. **Antinociceptive effect of certain dimethoxy flavones in mice.** *European Journal of Pharmacology*, v. 727, p. 148-157, 2014.

PAN, H. L.; WU, Z. Z.; ZOU, H.Y.; CHEN, S. R.; ZHANG, H. M.; LI, D. P. **Modulation of pain transmittion by G protein-coupled receptors.** *Pharmacology Therapeutics*, v. 117, p. 141-161, 2008.

PATEL, K. V.; GURALNIK, J. M.; DANSIE, E. J.; TURK, D. C. **Prevalence and impact of pain among older adults in the United States: findings from 2011 National Health and Aging Trends Study**, v. 154, p. 1-22, 2013.

PERIMAL, E.K., AKHTAR, M.N., MOHAMAD, A.S., KHALID, M.H., MING, O.H., KHALID, S., TATT, L.M., KAMALDIN, M.N., ZAKARIA, Z.A., ISRAF, D.A., LAJIS, N., SULAIMAN, M.R. **Zerumbone-induced antinociception: involvement of the l-arginine nitric oxide-cGMP-PKC-K⁺ ATP channel pathways.** *Basic and Clinical, Pharmacology and Toxicology*, v. 108, p. 155–162, 2011.

PERL, E. R. **Pain mechanisms: A commentary on concepts and issues.** *Progress in Neurobiology*, v. 94, p. 20-38, 2011.

PERROS, P.; FRIER, B. **The long-term sequelae of severe hypoglycemia on the brain in insulin-dependent diabetes mellitus.** *Hormones and Metabolism Research*, v. 29, p. 197-202, 1997.

PERTOVAARA, A. **The noradrenergic pain regulation system: A potential target for pain therapy.** *European Journal of Pharmacology*, v. 716, p. 2-7, 2013.

PIA, H.W. **Introduction.** *Acta Neurochir.* (Wien), v. 38, p. 99-100, 1987. Suppl.

PINHEIRO, M. M. G.; RADULOVIC, N. S.; MILTOJEVIC, A. B.; BOYLAN, F. **Antinociceptive esters of N-methylantranilic acid: mechanism of action in heat-mediated pain.** *European Journal of Pain*, v. 727, 106-114, 2014.

RABELO, A .S.; OLIVEIRA, I. D.; GUIMARÃES, A. G.; QUINTANS, J. S. S.; PRATA, A. P. N.; GELAIN, D. P.; VENCESLAU, L. J.; BONJARDIM, L. R.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; SANTOS, A. D. C.; NOGUEIRA, P. C. L.; COSTA, E. V.; MORAES, V. R. S.; ARAUJO, A. A. S. **Antinociceptive, anti-inflammatory and antioxidante activities of aqueous extract from *Remirea marítima* (Cyperaceae).** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 145, p. 11-17, 2013.

RAO, Y. K.; FANG, S.; TZENG, Y. **Anti-inflammatory activities of flavonoids isolated from *Caesalpinia pulcherrima*.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, p. 249-253, 2005.

RIBEIRO, A. R. S.; DINIZ, P. B. F.; ESTEVAM, C. S.; PINHEIRO, M. S.; ALBUQUERQUE-JUNIOR, R. L. C.; THOMAZZI, S. M. **Gastroprotective activity of the ethanol extract from the inner bark of *Caesalpinia pyramidalis* in rats.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 147, n. 2, p. 383-388, 2013.

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

RIBEIRO, S.; SCHIMIDT, A. P.; SCHMIDT, S. G. R. **O uso de opióides no tratamento da dor crônica cão oncológica: o papel da metadona.** *Revista Brasileira de Anestesiologia*, v. 52, n. 5, p. 644-651, 2002.

RIEDEL, W.; NEECK, G. **Nociception, pain and antinociception: current conceptions,** v. 60, p. 404-415, 2001.

RODRIGUES, A. R.; DUARTE, I.D. **The peripheral antinociceptive effect induced by morphine is associated with ATP-sensitive K⁺ channels.** *British Journal of Pharmacology*, v. 129, p. 110-114, 2000.

ROHRS, E. L.; KLOEFKORN, H . E.; LAKES, E. H.; JACOBS, B. Y.; NEUBERT, J. K.; CAUDLE, R. M.; ALLEN, K. D. **A novel operant-based behavioral assay of**

mechanical allodynia in the orofacial region of rats. *Journal of Neuroscience Methods*, v. 248, p. 1-6, 2015.

ROKYTA, R.; HOLECEK, V.; PEKARKOVA, I.; KREJCOVA, J.; RACEK, J. **Free radicals after painful stimulation are influenced by antioxidants and analgesics.** *Neuroendocrinology Letters*, v. 24, p. 304-309, 2003.

RUSSO, C. M.; BROSE, W. G. **Chronic pain.** *Annual Review of Medicine*, v. 49, p. 123-133, 1998.

SACERDOTE, P.; LEVRINI, L. **Peripheral mechanisms of dental pain: the role of substance P.** *Mediators of Inflammation*, v. 2012, p. 1-6, 2012.

SAKURADA, T.; KATSUMATA, K.; TAN-NO, K.; SAKURADA, S.; KISARA, K. T. **The capsaicin test in mice for evaluation tachykinin antagonists in the spinal cord.** *Neuropharmacology*, v. 31, n. 12, p. 1279-1285, 1992.

SAKURADA, T.; MATSUMURA, T.; MARIYAMA, T.; SAKURADA, C.; VENO, S.; SAKURADA, S. **Differential effects of intraplantar capsazepine and ruthenium red and capsaicin-induced desensitization in mice.** *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 75, p. 115-121, 2003.

SAMAD, T. A.; MOORE, K. A.; SAPIRSTEIN, A.; BILLET, S.; ALCHORNE, A.; POOLE, S.; BONVENTRE, J. V.; WOOLF, C. J. **Interleukin-1 β -mediated induction of COX-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity.** *Nature*, v. 410, p. 471-475, 2001.

SANTANA, D. G.; SANTOS, C. A.; SANTOS, A. D. C.; NOGUEIRA, P. C. L.; THOMAZZI, S. M.; ESTEVAM, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; CAMARGO, E. A. **Beneficial effects of the ethanol extract of *Caesalpinia pyramidalis* on the inflammatory response and abdominal hyperalgesia in rats with acute pancreatitis.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 142, p. 445-455, 2012.

SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. **Further evidence for the involvement of tachykinin receptor subtypes in formalin and capsaicin models of pain in mice.** *Neuropeptides*, v. 31, p. 381-389, 1997.

SANTOS, C. A.; PASSOS, A. M. P. R.; ANDRADE, F. C.; CAMARGO, E. A.; ESTEVAM, C. S.; SANTOS, M. R. V.; THOMAZZI, S. M. **Antinociceptive and anti-inflammatory effects os *Caesalpinia pyramidalis* in rodents.** *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 21, p. 1077-1083, 2011.

SANTOS, R. M. S.; OLIVEIRA, S. M.; SILVA, C.; HOFMEISTER, C.; FERREIRA, J.; ASSREUY, J. **Anti-nociceptive and anti-edematogenic effects of glibenclamide in a model of acute gouty attack in rats.** *Inflammation Research*, v. 62, p. 617-625, 2013.

SAWYNOK, J. **Adenosine receptor activation and nociception.** *European Journal of Pharmacology*, v. 347, n. 1, p. 1-11, 1998.

SELVARAJ, G.; KALIAMURTHI, S.; THIRUNGNASAMBANDAM, R.; VIVEKANANDAN, L.; THANGAVEL, B. **Anti-nociceptive effect in mice of Thillai: Flavonoid rutin.** *Biomedical and Enviromental Sciences*, v. 27, n. 4, p. 295-299, 2014.

SERPELL, M. **Anatomy, physiology and pharmacology of pain.** *Pain*, v. 6, p. 7-10, 2005.

SCHAIBLE, H. G.; RICHTER, F. **Pathophysiology of pain.** *Langenbecks Archives of Surgery*, v. 389, n. 4, p. 237-243, 2004.

SCHREIBER, S.; FRISHTICK, R.; VOLIS, I.; RUBOVITCH, V.; PICK, C. G.; WEIZMAN, R. **The antinociceptive properties of reboxetine in acute pain.** *European Neuropsychopharmacology*, v. 19, p. 735-739, 2009.

SIEMENS, J.; ZHOU, S.; PISKOROWSKI, R.; NIKAI, T.; LUMPKIN, E. A.; BASBAUM, A. I.; KING, D.; JULIUS, D. **Spider toxins activate the capsaicin receptor to produce inflammatory pain.** *Nature*, v. 444, n. 7116, p. 208-212, 2006.

SILVA, C. H. T. P.; PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; CASTRO, V. T. N. A.; LIMA, D. C. A.; AMORIM, E. L. C. **Antioxidant capacity and phenolic content of *Caesalpinia pyramidalis* Tul. and *Sapium glandulosum* (L.) Morong from northeastern Brazil.** *Molecules*, v. 16, p. 4728-4739, 2011.

SILVA, L. M. M.; MATOS, V. P. **Morfologia de frutos, sementes e plântulas de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul. - *Caesalpinaceae*) e de juazeiro (*Zizyphus joazeiro* Mart. - *Rhamnaceae*).** *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 20, n. 2, p. 263-269, 1998.

SOSNOWSKI, M.; STEVENS, C. W.; YAKSH, T. L. **Assessment of the role of A1/A2 adenosine receptors mediating the purine antinociception, motor and autonomic function in the rat spinal cord.** *Journal of Pharmacology Experimental Therapy*, v. 250, n. 3, p. 915-922, 1989.

STEEDS, C. E. **The anatomy and physiology of pain.** *Surgery*, v. 27, n. 12, p. 507-511, 2009.

STEIN, C.; CLARK, J. C.; OH, U.; VASKO, M. R.; WILCOX, G. L.; OVERLAND, A. C.; VANDERAH, T. W. **Peripheral mechanisms of pain and analgesia.** *Brain Research Reviews*, v. 60, p. 60-113, 2009.

STEIN, C. **Peripheral mechanisms of opioid analgesia.** *Anesthesia and analgesia*, v. 76, p. 182-191, 2004.

SURI, M.; JAIN, S.; MATHUR, R. **Pattern of biphasic response to various noxious stimuli in rats ingesting sucrose *ad libitum*.** *Physiology and Behaviour*, v. 101, p. 224-231, 2010.

SWAYNOK, J. **Adenosine receptor activation and nociception.** *European Journal of Pharmacology*, v. 317, p. 1-11, 1998.

SWAYNOK, J. **Caffeine and pain.** *Pain*, v. 152, p. 726-729, 2011.

SWEITZER, S.; MARTIN, D; DELEO, J. A. **Intrathecal interleukin-1 receptor antagonist in combination with soluble tumor necrosis factor receptor exhibits an anti-allodynic action in a rat model of neuropathic pain.** *Neuroscience*, v. 103, p. 529-539, 2001.

TAIWO, Y. O.; LEVINE, J. D. **Further confirmation of the role of adenylyl cyclase and of cAMP-dependent protein kinase in primary afferent hyperalgesia.** *Neuroscience*, v. 44, n. 1, p. 131-135, 1991.

TALAREK, S.; FIDECKA, S. **Role of nitric oxide in benzodiazepines-induced antinociception in mice.** *Polish Journal of Pharmacology*, v. 54, p. 27-34, 2002.

TJØLSEN, A.; HOLE, K. **Animal models of analgesia.** In: DICKENSON, A.; BESSON, J. M. (Eds.). *The pharmacology of pain*. Springer-Verlag, Berlin, p. 1-20, 1997.

TOMINAGA, M.; CATERINA, M. J.; MALMBERG, A. B.; ROSEN, T. A.; GILBERT, H.; SKINNER, K.; RAUMANN, B. E.; BASBAUM, A. I.; JULIUS, D. **The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli.** *Neuron*, v. 21, n. 3, p. 531-543, 1998.

TOTH, C.; LANDER, J.; WIEBE, S. **The prevalence and impact of chronic pain with neuropathic pain symptoms in the general population.** *Pain Medicine*, v. 10, n. 5, p. 918-927, 2009.

TREEDE, R. D.; MAGERL, W. **Multiple mechanisms of secondary hyperalgesia.** *Progress in Brain Research*, v. 129, p. 331, 341, 2000.

TREVISANI, M.; SMART, D.; GUNTHORPE, M. J.; TOGNETTO, M.; BARBIERI, M.; CAMPI, B.; AMADESI, S.; GRAY, J.; JERMAN, J. C.; BROUGH, S. J.; OWEN, D.; SMITH, G. D.; RANDALL, A.D.; HARRISON, S.; BIANCHI, A.; DAVIS, J. B.;

GEPPETTI, P. **Ethanol elicits and potentiates nociceptor responses via the vanilloid receptor-1.** *Nature Neuroscience*, v. 5, n. 6, p. 546-551, 2002.

VAZ, Z. R.; FILHO, V. C.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Antinociceptive action of 2-(4-bromobenzoyl)-3-methyl-4,6-dimethoxy benzofuran, a novel xanthoxyline derivative on chemical and thermal models of nociception in mice.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 278, p. 304-312, 1996.

VECCHIO, S. L.; PETERSEN, L. J.; FINOCCHIETTI, S. GAZERANI, P.; ARENDT-NIELSEN, L.; GRAVEN-NIELSEN, T. **Hyperalgesia and allodynia to superficial and deep-tissue mechanical stimulation within and outside of the UVB irradiated area in human skin.** *Scandinavian Journal of Pain*, v. 5, p. 258-267, 2014.

VERRI-JUNIOR, W. A.; CUNHA, T. M.; PARADA, C. A.; POOLE, S.; CUNHA, F. Q.; FERREIRA, S. H. **Hipernociceptive role of cytokines and chemokines: targets for analgesic drug development?** *Pharmacology and Therapeutics*, v. 112, p. 116-138, 2006.

VIDYALAKSHMI, K.; KAMALAKANNAN, P.; VISWANATHAN, S.; RAMASWANNY, S. **Antinociceptive effect of certain dihydroxi flavones in mice.** *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour*, v. 96, p. 1-6, 2010.

WILLIS, W. D. **The origin and destination of pathways involved on pain transmission.** In: WALL, P. D.; MELZACK, R. *Textbook of pain*. Edinburgh: Churchill Livingstone, p. 112-127, 1989.

WOJDASIEWICZ, P.; PONIATOWSKI, L. A.; SZUKIEWICZ, D. **The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis.** *Mediators of Inflammation*, v. 2014, p. 1-19, 2014.

WOLF, C. J. **Pain.** *Neurobiology of Disease*, v. 7, p. 504, 510, 2000.

XU, J. Y.; PIEPER, G. M.; TSENG, L. F. **Activation of a NO-cyclic GMP system by NO donors potentiates beta-endorphin-induced antinociception in the mouse.** *Pain*, v. 63, p. 377-383, 1995.

XU, L.; MABUCHI, T.; KATANO, T.; MATSUMURA, S.; OKUDA-ASHITAKA, E.; SAKIMURA, K.; MISHINA, M.; ITO, S. **Nitric oxide (NO) serves as a retrograde Messenger to activate neuronal NO synthase in the spinal cord via NMDA receptors.** *Nitric Oxide*, v. 17, p. 18-24, 2007.

YAMAMOTO, R. T.; FOULDS-MATHES, W.; KANAREK, R. B. **Antinociceptive actions of peripheral glucose administration.** *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour*, v. 117, p. 34-39, 2014.

YOSHIDA, T.; INOUE, R.; MORII, T.; TAKAHASHI, N.; YAMAMOTO, S.; HARA, Y.; TOMINAGA, M.; SHIMIZU, S.; SATO, Y.; MORI, Y. **Nitric oxide activates TRP channels by cysteine S-nitrosylation.** *Nature Chemical Biology*, v. 2, n. 11, p. 596-607, 2006.

ZAKARIA, Z. A.; SANI, M. H. M.; CHEEMA, M. S.; KADER, A. A.; KEK, T. L.; SALLEH, M. Z. **Antinociceptive activity of methanolic extract of *Muntingia* leaves: further elucidation of the possible mechanisms.** *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 14, p. 63-75, 2014.

ZEILHOFER, H. U. **Synaptic modulation in pain pathways.** *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, v. 154, p. 73-100, 2005.

ZHANG, X.; BAI, X. **New therapeutic uses for an alpha2 adrenergic receptor agonist – Dexmedetomidine in pain management.** *Neuroscience Letters*, v. 561, p. 7-12, 2014.

ZHU, C. Z.; WILSON, S. G.; IKUSA, J. P.; WISMER, C. T.; GAUVIN, D. M.; LYNCH III, J. J. **Assessing the role of metabotropic glutamate receptor 5 in multiple nociceptive modalities.** *European Journal of Pharmacology*, v. 506, p. 107-118, 2004.

ZIMMERMANN, M. **Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals.** *Pain*, v. 16, p. 109-110, 1983.

9 ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Estudos das atividades antinociceptiva e antioxidante da *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Leguminosae)"**, sob coordenação da **Prof^a. Dr^a. SARA MARIA THOMAZZI** (protocolo **CEPA 77/2010**), foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Sergipe, em reunião realizada dia 19/04/2011.

São Cristóvão, 19 de abril de 2011.

Prof^a. Dr^a. Flavia Teixeira Silva
Presidente do CEPA/UFS

Cidade Universitária "Prof. Aloísio de Campos"
Jardim Rosa Elze - São Cristóvão - SE
49100-000
Fones: 3212 6661/6606

ARTIGO 1

Journal of Ethnopharmacology 148 (2013) 205–209



ELSEVIER

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Journal of Ethnopharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jep

Evaluation of mechanisms involved in the antinociception of the ethanol extract from the inner bark of *Caesalpinia pyramidalis* in mice



Clíomar A. Santos, Dayanne S. Santos, Danielle G. Santana, Sara M. Thomazzi*

Pharmacology of Inflammation and Pain Laboratory, Department of Physiology, Federal University of Sergipe, CEP 49100-000, São Cristóvão, Sergipe, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 17 November 2012

Accepted 31 March 2013

Available online 17 April 2013

Keywords:

Caesalpinia pyramidalis

Fabaceae

Glutamatergic system

L-arginine–nitric oxide pathway

Nociception

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabaceae) is an endemic tree of the Northeast region of Brazil, mainly in the Caatinga region. More commonly, inner bark or flowers are traditionally used to treat many painful and inflammatory processes. A common use of this plant is made by macerating a handful of its stem bark in a liter of wine or sugarcane brandy. It is drunk against stomachache, dysenteries, and diarrheas.

Materials and methods: The ethanol extract of *Caesalpinia pyramidalis* inner bark was used in mice via oral route, at the doses of 10, 30, and 100 mg/kg, in behavioral models of nociception and investigates some of the mechanisms underlying this effect.

Results: The ethanol extract (30 and 100 mg/kg, $P < 0.001$), given orally, produced dose dependent inhibition of acetic acid-induced visceral pain. The ethanol extract also caused significant and dose-dependent inhibition of capsaicin-(100 mg/kg, $P < 0.001$) and glutamate-(10, 30, and 100 mg/kg, $P < 0.01$) induced pain. The antinociception caused by the ethanol extract (30 mg/kg) in the abdominal constriction test was significantly attenuated ($P < 0.001$) by intraperitoneal treatment of mice with L-arginine (600 mg/kg).

Conclusions: Collectively, the present results suggest that the ethanol extract of *Caesalpinia pyramidalis* produced dose-related antinociception in several models of pain through mechanisms that involved both glutamatergic system and/or the L-arginine–nitric oxide pathway, supporting the folkloric usage of the plant to treat various painful processes.

© 2013 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

ARTIGO 2

From: **Fitoterapia** <fitote@elsevier.com>

Date: 2015-04-20 1:17 GMT-03:00

Subject: A manuscript number has been assigned: FITOTE-D-15-00480

To: sthomazzi@gmail.com, sarathomazzi@ufs.br

Ms. Ref. No.: FITOTE-D-15-00480

Title: New approaches to elucidate the antinociception of the ethanol extract from *Caesalpinia pyramidalis*
Fitoterapia

Dear Sara,

Your submission entitled "New approaches to elucidate the antinociception of the ethanol extract from *Caesalpinia pyramidalis*" has been assigned the following manuscript number: FITOTE-D-15-00480.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/fitote/>.

Your username is: sthomazzi@gmail.com

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/fitote/automail_query.asp

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Fitoterapia

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

**New approaches to elucidate the antinociception of the ethanol extract from
*Caesalpinia pyramidalis***

Cliomar A. Santos, Sara M. Thomazzi*

*Department of Physiology, Federal University of Sergipe, CEP 49100-000, São
Cristóvão, Sergipe, Brazil*

*Author for correspondence:

Sara Maria Thomazzi, PhD

Department of Physiology

Center of Biological and Health Sciences

Federal University of Sergipe

49100-000, São Cristóvão (SE), Brazil

Phone: +55 79 21056640

FAX: +55 79 21056474

E-mail: sthomazzi@gmail.com (S.M. Thomazzi)