



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM
MEDICAMENTOS**



**ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA, ANTI-INFLAMATÓRIA E
ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E
FRAÇÃO ALCALÓIDE DA *Waltheria viscosissima* A. St. Hil -
Malvaceae**

CLAUDENISE CALDAS DA SILVA DANTAS VIEGAS

**JOÃO PESSOA
2022**

CLAUDENISE CALDAS DA SILVA DANTAS VIEGAS

**ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA, ANTI-INFLAMATÓRIA E
ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E
FRAÇÃO ALCALÓIDE DA *Waltheria viscosissima* A. St. Hil -
Malvaceae**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos (DITM) da Universidade Federal da Paraíba.

ORIENTADORA:

Profa. Dr^a Temilce Simões de Assis Cantalice

**JOÃO PESSOA
2022**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

V656a Viegas, Claudenise Caldas da Silva Dantas.

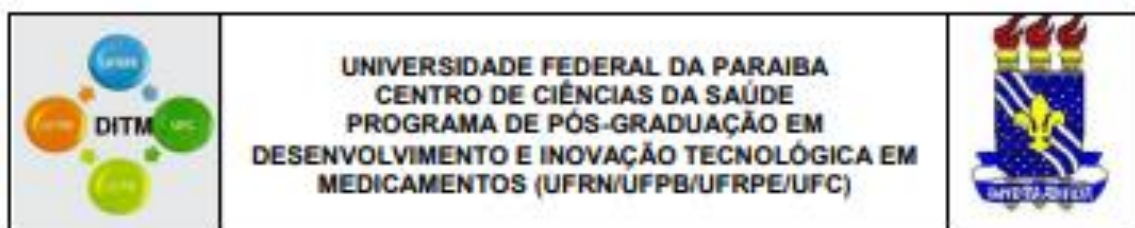
Atividade antinociceptiva, anti-inflamatória e antioxidante do extrato etanólico bruto e fração alcalóide da *Waltheria viscosissima* A. St. Hil - Malvaceae / Claudenise Caldas da Silva Dantas Viegas. - João Pessoa, 2022.
82 f. : il.

Orientação: Temilce Simões de Assis Cantalice.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Substâncias vegetais - *Waltheria viscosissima*. 2. Alcaloides. 3. Inflamação. 4. Antioxidantes. 5. Antinociceptivo. I. Cantalice, Temilce Simões de Assis. II. Título.

UFPB/BC

CDU 615.322(043)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM
MEDICAMENTOS (UFRN/UFPB/UFRPE/UFC)**

Ata da vigésima segunda defesa de tese de doutorado no Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos de POLIANE DA SILVA CALEXTO, candidata ao Título de "Doutor" em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos/UFPB.

1 Às quatorze horas (14:00) do dia dezoito de março do ano de dois mil e vinte dois (18/03/2022), na sala
2 virtual, reuniram-se em caráter de Solenidade pública os membros da Comissão designada para examinar a
3 aluna **CLAUDENISE CALDAS DA SILVA DANTAS VIEGAS**, candidata ao Título de "Doutor" em
4 Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos. Foram componentes da Banca Examinadora os
5 Professores Doutores: Temilce Simões de Assis Cantalice (orientadora), Hiltzeth de Luna Freire Pessoa
6 (examinadora interna), Abrahão Alves de Oliveira Filho (examinador interno), Cynthia Layse Ferreira de
7 Almeida (examinadora externa-UNIVASF) e Analúcia Guedes Silveira Cabral (examinadora externa-
8 ASCES-UNITA). Dando início aos trabalhos a presidente da banca Prof.^a Dr.^a Temilce Simões de Assis
9 Cantalice, após declarar os objetivos da reunião, apresentou a candidata, **CLAUDENISE CALDAS DA**
10 **SILVA DANTAS VIEGAS**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o
11 tema apresentado e intitulado **"ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA, ANTI-INFLAMATÓRIA E**
12 **ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÃO ALCALÓIDE DA *Waltheria***
13 ***viscosíssima* A. St. Hil - Malvaceae"**. Após dispor sobre o referido tema durante cerca de cinquenta
14 minutos, a candidata foi arguida pelos examinadores na forma Regimental. Em seguida passou a comissão,
15 em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito
16 APROVADO. Em face da aprovação declarou o presidente achar-se a examinada, **CLAUDENISE**
17 **CALDAS DA SILVA DANTAS VIEGAS**, legalmente habilitada a receber o Título de "Doutor" em
18 Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, área Farmácia, cabendo à Universidade
19 Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que o mesmo faz jus. Os
20 trabalhos foram encerrados determinando a leitura para fins de aprovação e a lavratura da presente ata
21 devidamente assinada por todos os membros da Banca Examinadora.

João Pessoa, em 18 de março de 2022.

Temilce Simões de Assis Cantalice
Prof.^a Dr.^a Temilce Simões de Assis Cantalice (presidência)

Hiltzeth de Luna Freire Pessoa
Prof.^a Dr.^a Hiltzeth de Luna Freire Pessoa (Examinadora Interna)

Abrahão Alves de Oliveira Filho
Prof.^a Dr.^a Abrahão Alves de Oliveira Filho (Examinador Interno)

Cynthia Layse Ferreira de Almeida
Prof.^a Dr.^a Cynthia Layse Ferreira de Almeida (Examinadora Externa)

Analúcia Guedes Silveira Cabral
Prof.^a Dr.^a Analúcia Guedes Silveira Cabral (Examinadora Externa)

Aos meus avós (in memoriam)
Aos meus pais Cláudio Dantas
Maria Alvanise Caldas
Ao meu irmão Claudson Dantas
Ao meu Esposo Helder Viegas

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela provisão, sabedoria e força durante esse período do doutorado.

A minha mãe Maria Alvanise Caldas da Silva Dantas, meu pai Cláudio Dantas Pereira e meu irmão Claudson Caldas da Silva Dantas pelo carinho, força e apoio durante toda jornada, vocês são minhas referenciais e essência.

Ao meu esposo Helder Viegas Monteiro de Carvalho que sempre esteve ao meu lado me apoiando e sendo meu combustível diário para não desistir.

A toda minha família Caldas e Dantas por me apoiarem e me darem força para continuar a caminhada.

Ao meu sogro e minha sogra que de forma indireta contribuíram com esta conquista.

Ao meu cunhado pelo desenvolvimento das imagens gráficas do artigo científico produto desta tese.

A Loiane e Johan por me apoiarem diretamente e auxiliar nesta jornada e conquista, além de acreditar neste sonho, que não mediram esforços ou distância para realização deste sonho.

A equipe do laboratório de psicofarmacologia pelo auxílio no desenvolvimento das análises experimentais *in vivo*.

Aos colegas de trabalho do HSS e HCP gestão em especial minha diretora Luciana Melo.

À Profa. Dra. Temilce Simões de Assis Cantalice pela oportunidade e confiança para desenvolvimento desse trabalho.

À Profa. Dra. Hilzeth de Luna Freire Pessoa coordenadora da pós-graduação por todo cuidado prestado nos momentos mais difíceis nesta caminhada.

À Adriana que com tanto zelo e auxílio nos momentos mais difíceis desta caminhada.

Ao CNPq e ao DITM/UFPB para concretização deste trabalho.

Por que estás abatida, ó minha alma? E por que te perturbas dentro de mim? Espera em Deus, pois ainda o louvarei, o qual é a salvação da minha face e Deus meu.

Salmos 43:5

RESUMO

VIEGAS, C. C. S. D. **Atividade Antinociceptiva, Anti-inflamatória e Antioxidante do extrato etanólico bruto e fração alcalóide da *Waltheria viscosissima* A. St. Hil - Malvaceae.** 2021. p. Tese (Pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica de Medicamentos) – UFPB/CCS/João Pessoa – PB.

A *Waltheria viscosissima* A. St.-Hil (Malvaceae) também conhecida como ‘Malva branca’, foi relatada etnofarmacologicamente por ter propriedades antinociceptivas e anti-inflamatórias. O objetivo do presente estudo é elucidar a atividade antinociceptiva, anti-inflamatória e antioxidante do extrato etanólico bruto (EEBW_{a.v}) e da fração alcalóide (FAW_{a.v}) das partes aéreas da *W. viscosissima* em camundongos Swiss. Inicialmente foi realizado o teste de toxicidade aguda do EEBW_{a.v} e FAW_{a.v} na dose de 2000 mg/kg, intraperitoneal (i.p.), e a triagem comportamental através do teste de Rota Rod com EEBW_{a.v} e FAW_{a.v} (50, 100 e 200 mg/kg, i.p.), diazepam (4 mg/kg, i.p.). O EEBW_{a.v} e FAW_{a.v} (50, 100 e 200 mg/kg, i.p.), morfina (10 mg/kg, i.p.) e controle (tratado com solução salina) foram usados em testes *in vivo* de nocicepção química induzida por ácido acético (0,6%; 10 mg/kg) e formalina (2,5 %). A inflamação aguda foi avaliada pelo modelo de edema de pata induzido por prostaglandina e a nível peritoneal, por carragenina (1%), em testes *in vivo*, cujos grupos foram o controle (tratado com solução salina) e os grupos tratados com EEBW_{a.v} (100 mg/kg, i.p.), FAW_{a.v} (100 mg/kg, i.p.) e padrão indometacina (10 mg/kg, i.p.) ou dexametasona (2 mg/kg, i.p.). Após o procedimento de peritonite induzido por carragenina, os animais foram eutanasiados e o líquido peritoneal coletado para avaliação da migração celular e balanço redox (malondialdeído - MDA e Capacidade Antioxidante Total - CAOT). O mecanismo de ação foi avaliado pelo teste de formalina com cafeína (10 mg/kg, i.p.), naloxona (5 mg/kg, i.p.) e glibenclamida (10 mg/kg, i.p.). A morfina, EEBW_{a.v} (50 e 100 mg/kg, i.p.) e FAW_{a.v} (100 mg/kg, i.p.) reduziram significativamente o número de contorções abdominais quando comparados ao grupo controle, e a FAW_{a.v} (100 mg/kg, i.p.) foi superior a FAW_{a.v} (200 mg/kg, i.p.). No modelo de nocicepção induzida por formalina, na fase neurogênica o EEBW_{a.v} (50 e 200 mg/kg, i.p.) reduziu significativamente o número de lambidas de pata. Na fase inflamatória a atividade da FAW_{a.v} (100 mg/kg, i.p.) foi superior ao EEBW_{a.v} (200 mg/kg, i.p.). EEBW_{a.v} e FAW_{a.v} (100 mg/kg, i.p.) mostraram-se significativos para os próximos experimentos. Ambas as amostras apresentaram redução no edema de pata e na migração celular, assim como os tratados com indometacina e dexametasona, em animais com inflamação induzida por prostaglandina e carragenina, quando comparadas ao grupo controle. O balanço redox (CAOT e MDA) revelou que apenas EEBW_{a.v} (100 mg/kg, i.p.) apresentou maior potencial antioxidante do que o grupo não tratado e o grupo dexametasona, $p < 0,005$ e $p < 0,001$, respectivamente. FAW_{a.v} (100 mg/kg, i.p.) não apresentou atividade antioxidante superior ao EEBW_{a.v}. Também foi detectado que EEBW_{a.v} e FAW_{a.v} (100 mg/kg, i.p.) não inibiram a peroxidação lipídica e apresentam possível mecanismo de ação antinociceptivo pelos receptores opioides e canais de K⁺_{ATP}. A *W. viscosissima* estimula o controle da dor, que pode ser mediado por ação central e periférica. O EEBW_{a.v} e FAW_{a.v} mostraram-se promissores e com efeito bioativo estatisticamente semelhante ao da morfina, indometacina e dexametasona, medicamentos padrões no mercado, mas com a vantagem da atividade antioxidante.

Palavra-chave: *Waltheria viscosissima*; Alcaloides; Inflamação; Antioxidantes; Antinociceptivo.

ABSTRACT

VIEGAS, C. C. S. D. **Antinociceptive, Anti-inflammatory and Antioxidant activities of the crude ethanolic extract and alkaloid fraction of *Waltheria viscosissima* A. St. - Hil. (Malvaceae).** 2021. p. Tese (Pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica de Medicamentos) – UFPB/CCS/João Pessoa – PB.

The *Waltheria viscosissima* A. St.- Hil (Malvaceae) is also known as ‘Malva branca’, has been reported ethnopharmacologically to have antinociceptive and anti-inflammatory properties. The objective of this study is to elucidate the antinociceptive, anti-inflammatory and antioxidant activity of the crude ethanol extract (EEB_{Wa.v}) and alkaloid fraction (FAW_{Wa.v}) of aerial parts of the *W. viscosissima* in Swiss mice. Initially, the acute toxicity test of the EEB_{Wa.v} and FAW_{Wa.v} was performed at a dose of 2000 mg/kg, intraperitoneally (i.p.), and the behavioral screening through the Rota rod test with EEB_{Wa.v} and FAW_{Wa.v} (50, 100 e 200 mg/kg), Diazepam (4 mg/kg). EEB_{Wa.v} and FAW_{Wa.v} (50, 100 and 200 mg/kg) and morphine (10 mg/kg) were used *in vivo* tests of chemical nociception induced by acetic acid (0.6%; 10 mg/kg) and formalin (2.5%) in Swiss male mice. Acute inflammation was assessed by the prostaglandin induced paw edema model and induced peritonitis by carrageenan (1%), *in vivo* tests, whose groups were the control (inflammation induced without treatment) and the groups treated with EEB_{Wa.v} (100 mg/kg), FAW_{Wa.v} (100 mg/kg) and indomethacin (10 mg/kg) or dexamethasone (2 mg/kg). After the carrageenan induced peritonitis procedure, the animals were euthanized and the peritoneal fluid was collected to evaluate cell migration and redox balance (malondialdehyde - MDA and Total Antioxidant Capacity - TAC). The mechanism of action was evaluated by the formalin test with caffeine (10 mg/kg, i.p.), naloxone (5 mg/kg, i.p.) and glibenclamide (10 mg/kg, i.p.). The morphine, EEB_{Wa.v} (50 and 100 mg/kg) and FAW_{Wa.v} (100 mg/kg) significantly reduced the number of abdominal contortions when compared to the control group and FAW_{Wa.v} (100 mg/kg) was superior to FAW_{Wa.v} (200 mg/kg). In the formalin-induced nociception model, in the neurogenic phase EEB_{Wa.v} (50 and 200 mg/kg) significantly reduced the number of paw licks. In the inflammatory phase FAW_{Wa.v} (100 mg/kg) was superior to EEB_{Wa.v} (200 mg/kg). EEB_{Wa.v} and FAW_{Wa.v} (100 mg/kg) proved to be significant for the next experiments. Both samples showed reduction in paw edema and cell migration, as well as those treated with indomethacin and dexamethasone, in animals with inflammation induced by prostaglandin and carrageenan, when compared to the control group. The redox balance (TAC and MDA) revealed that only EEB_{Wa.v} (100 mg/kg) had higher antioxidant potential than the untreated group and the dexamethasone group, $p < 0.005$ and $p < 0.001$, respectively. FAW_{Wa.v} (100 mg/kg) did not show antioxidant activity superior to EEB_{Wa.v}. It was also detected that EEB_{Wa.v} and FAW_{Wa.v} (100 mg/kg) failed to inhibit lipid peroxidation and present a possible antinociceptive mechanism of action by opioid receptors and K^+_{ATP} channels. The *W. viscosissima* stimulates pain control, which can be mediated by both central and peripheral action. The EEB_{Wa.v} e FAW_{Wa.v} showed promising and bioactive effect is statistically similar to morphine, indomethacin and dexamethasone, standard drugs on the market, but with the advantage of antioxidant activity.

Keywords: *Waltheria viscosissima*; Alkaloids; Inflammation; Antioxidant; Antinociceptive.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Classes principais de nociceptores.	21
Figura 2. Esquematização da Nocicepção (A) e transdução (B)	22
Figura 3. (A) Classificação da inflamação categorizada por duração e funções imunológicas. (B) Vias da inflamação aguda e seus processos de ativação.	25
Figura 4. Estresse oxidativo e inflamação: desequilíbrio de antioxidantes e radicais livres	25
Figura 5. Disfunção mitocondrial como gatilho do estresse oxidativo e inflamação.	27
Figura 6. Distribuição de espécies de Malvaceae no mundo	28
Figura 7. Distribuição mundial do gênero <i>Waltheria</i> .	31
Figura 8. <i>W. viscosissima</i> .	31
Figura 9. Distribuição mundial do gênero <i>W. viscosissima</i> .	32
Figura 10. Camundongo Swiss.	36
Figura 11. Deliniameto experimental do estudo do EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas da <i>W. viscosissima</i> .	37
Figura 12. Camundongo Swiss com ministração intraperitonal.	38
Figura 13. Rota Rod e registrado o tempo de permanência.	41
Figura 14. Contorções abdominais induzido por ácido acético.	42
Figura 15. Aparelho triangular espelhado pata teste de Formalina.	43
Figura 16. Delineamento experimental do teste de edema de pata induzido por PGE2.	44
Figure 17. Efeito do tratamento com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de <i>W. viscosissima</i> (50, 100 e 200 mg / kg, i.p.), diazepam (4 mg / kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9% i.p.), controle, no teste de Rota rod.	51
Figura 18. Efeito do tratamento com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de <i>W. viscosissima</i> (50, 100 e 200 mg / kg, i.p.); morfina (10 mg / kg, i.p.); solução de NaCl (0,9% i.p.), controle; no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético.	52
Figura 19. Efeito do tratamento com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de <i>W. viscosissima</i> (50, 100 e 200 mg / kg, i.p.); morfina (10 mg/kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9% i.p.), controle; no tempo de lambida da pata nas fases neurogênicas (0-5 min) e fases inflamatórias (15-30) do teste da formalina.	53

- Figura 20.** Atividade anti-inflamatória por edema de pata induzido por prostaglandina E₂ em animais tratados com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (100 mg/kg, i.p.), Indometacina (10 mg/kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9% i.p.), controle. 5
- Figura 21.** Atividade anti-inflamatória por migração celular em animais tratados com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (100 mg/kg, i.p.), dexametasona (2 mg/kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9% i.p.), controle. 55
- Figura 22.** Capacidade antioxidante total (CAOT) no fluido peritoneal de camundongos saudáveis com inflamação induzida por carragenina tratados com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (100 mg / kg, i.p.), dexametasona (2 mg / kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9% i.p.), controle. 56
- Figura 23.** Peroxidação Lipídica por MDA no fluido peritoneal de camundongos saudáveis com inflamação induzida por carragenina tratados com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (100 mg / kg, i.p.), dexametasona (2 mg / kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9%, i.p.), controle. 57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Protocolo experimental utilizado na triagem farmacológica comportamental.	40
Quadro 2. Triagem Farmacológica Comportamental do extrato bruto das partes aéreas da <i>W. viscosissima</i>	50

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Propriedades bioativas do gênero <i>Whaltheria</i> .	29
Tabela 2. Avaliação do mecanismo de ação pela participação do sistema adenosinérgico do EEB <i>Wa.v</i> e FAW <i>a.v</i> das partes aéreas de <i>W. viscosissima</i> .	58
Tabela 3. Avaliação do mecanismo de ação pela participação do sistema opioide do EEB <i>Wa.v</i> e FAW <i>a.v</i> das partes aéreas de <i>W. viscosissima</i> .	59
Tabela 4. Avaliação do mecanismo de ação pela participação dos Canais de K^{+}_{ATP} do EEB <i>Wa.v</i> e FAW <i>a.v</i> das partes aéreas de <i>W. viscosissima</i> .	60

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

EEBW_{a.v}	Extrato etanólico bruto das partes aéreas da <i>W. viscosissima</i>
FAW_{a.v}	Fração alcaloide das partes aéreas da <i>W. viscosissima</i>
DCNT's	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
Aδ	Nociceptores Delta
COX-2	Ciclooxigenase 2
SNC	Sistema Nervoso Central
TNF-α	Fator de necrose tumoral
ROS	Espécie Reativa de Oxigênio
NF-κB	Fator nuclear kappa B
%	Por cento
$\pm$	Mais ou Menos
®	Marca registrada
° C	Graus Celsius
g	Grama
mg/kg	Miligrama por quilograma
i.p	Intraperitonal
H₂O	Água
mL	Mililitro
r.p.m	Rotação por minuto
CAOT	Capacidade Antioxidante Total
MDA	Malondialdeido
PGE₂	Prostaglandina E ₂
Canais de K⁺_{ATP}	Canais de potássio dependentes de Trifosfato de adenosina
ANOVA	Análise de Variância
κ	Kappa
α	Alfa
μg	Microgramas
μL	Microlitros
min	Minutos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 DOR E NOCICEPÇÃO	20
2.2 INFLAMAÇÃO AGUDA	23
2.3 ESTRESSE OXIDATIVO	26
2.4 FAMÍLIA MALVACEAE	27
2.4.1 <i>Waltheria viscosissima</i> A. St. Hil - Malvaceae	28
3. OBJETIVOS	34
3.1. GERAIS	34
3.2 ESPECÍFICOS	34
4 MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 ANIMAIS	36
4.2 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS	37
4.3 AVALIAÇÃO DA TOXIDADE AGUDA DO EEBWa.v E FAWa.v	38
4.4 TRIAGEM COMPORTAMENTAL	38
4.4.1 Triagem Farmacológica comportamental com EEBWa.v	38
4.4.2 Teste Rota Rod do EEBWa.v e FAWa.v	41
4.5 ESTUDO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA COM EEBWa.v E FAWa.v	41
4.5.1 Teste das contorções abdominais induzido por ácido acético do EEBWa.v e FAWa.v	41
4.5.2 Teste da Nocicepção Induzida por Formalina com EEBWa.v e FAWa.v	42
4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA COM EEBWa.v E FAWa.v	43
4.6.1 Teste de edema de pata Induzida por Prostaglandinas E₂	43
4.6.2 Teste de Peritonite Induzida por Carragenina	44
4.7 TESTES DA CAPACIDADE TOTAL (CAOT) DO EEBWa.v E FAWa.v DO FLUIDO PERITONIAL	45
4.8 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA POR MALONDIALDEIDO (MDA) COM EEBWa.v E FAWa.v DO FLUIDO PERITONIAL	45
4.9 AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS MECANISMOS DE AÇÃO ENVOLVIDOS NA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA COM EEBWa.v E	46

FAW*a.v*

4.9.1 Participação do Sistema Adenosinérgico	46
4.9.2 Participação do Sistema opioides	47
4.9.3 Participação dos Canais de K⁺_{ATP}	47
4.10 MÉTODO DE EUTANÁSIA	48
4.11 ESTATÍSTICA	48
5 RESULTADOS	50
6 DISCUSSÃO	62
7 CONCLUSÃO	69
REFERENCIAS	71
ANEXOS	82

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Os estudos com abordagem na etnobotânica vêm se intensificando decorrente a grande relevância em compreender a relação do ser humano-ambiente-plantas, a qual ainda é muito presente nos tempos atuais, cujo elo permite conhecer o potencial terapêutico por meio dos relatos da medicina popular (NETO, 2016). O Brasil é avaliado como um dos países de maior biodiversidade do planeta por apresentar cerca de 20% do número total de espécies de plantas do mundo. O número de espécies é estimado entre 350.000 e 550.000, destas, apenas 55.000 estão catalogadas e distribuídas entre as diferentes regiões do País. No entanto, boa parte dessa proporção de espécies ainda não foi investigada em relação as suas potencialidades terapêuticas (RIBEIRO et al., 2014).

A medicina popular é bastante aplicada, pois utiliza elementos naturais que, muitas vezes, correspondem ao único meio de tratamento disponível, sendo passado de uma geração para outra. Assim, cresce a busca por novos fitoterápicos, os quais se encontram baseados nessas práticas consideradas tradicionais da medicina popular. Entre inúmeras espécies vegetais de importância medicinal, as plantas pertencentes à família Malvaceae apresenta uma grande variedade de compostos bioativos com propriedades farmacológicas comprovadas cientificamente, dentre essas propriedades, pode ser citada a ação antinociceptiva e anti-inflamatória, sendo esta última relacionada ao gênero *Waltheria*, cujo gênero é pertencente à subfamília denominada de Sterculiaceae (RIBEIRO et al., 2014; NETO, 2016; ABAT et al., 2017).

A *Waltheria viscosíssima* é conhecida popularmente como malva-branca ou malva-viscosa, a qual encontra-se amplamente distribuída no México, África e no nordeste brasileiro. Seu uso terapêutico, na medicina popular brasileira, corresponde a atividades ntitussígena e expectorante (VASQUES et al. 1999). Dados etnofarmacológicos indicam que esta planta possui múltiplas propriedades bioativas, como controle da dor, inflamação, ação antifúngica, hipoglicemiante, entre outras (MOREIRA E BRAGANÇA, 2011).

O estudo de Ferreira et al. (2019) realizou a triagem fitoquímica com *W. viscosissima*, na qual foram encontrados esteroides, triterpenos, alcaloides e oito flavonoides. Durante este estudo, testes *in vitro* utilizando o extrato bruto etanólico das partes aéreas de *W. viscosissima* apresentaram atividade antioxidante e atividade

larvicida contra *Aedes aegypti* (Ferreira et al., 2019). Outro estudo de Vasques et al. (1999) com o extrato etanólico das partes aéreas da *W. viscosissima* indicou ação cardioprotetora em experimento *in vivo*. Sendo destaque para o presente estudo a busca pela elucidação do seu potencial bioativo no controle da dor e inflamação.

A dor desempenha um papel fisiológico importante, sendo responsável pelo controle da homeostasia do organismo. Ela representa um dos principais sinais clínicos e funciona como um sistema de alerta do organismo quando qualquer fator ameaça a integridade física do mesmo. E quando ocorre dano tecidual, a dor será acompanhada de inflamação (JULIUS, BASBAUM, 2001; JOANNA, 2014).

O processo inflamatório pode ser classificado em agudo ou crônico, o qual pode ser decorrente à exposição a microrganismos, agentes irritantes, bem como consequência de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT). Neste processo pode ocorrer expressão de ciclooxigenase 2 (COX-2), enzima responsável pela produção de prostaglandinas; além da formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e aumento na migração celular (YOUGBARE-ZIEBROU et al., 2016).

Neste contexto é importante ressaltar que grande parte dos fármacos já existentes no mercado utilizados para o controle da dor e do processo inflamatório possuam maior risco de toxicidade, bem como efeitos colaterais significativos (OWEMIDU et al, 2018). Os medicamentos com potencial anti-inflamatório, hoje indispensáveis para o tratamento da dor e inflamação, atuam suprimindo principalmente a expressão da ciclooxigenase 2 (COX-2) e na redução da migração celular. No entanto, essas drogas não têm efeito sobre o estresse oxidativo, que atua como desencadeador do processo inflamatório agudo ou crônico em várias condições patológicas (YOUGBARE- ZIEBROU et al., 2016). Por isso a busca por novas alternativas terapêuticas a partir de produtos naturais tem conquistado o mundo científico (OWEMIDU et al., 2018; AVOSEH et al., 2019).

Assim, considerando os relatos populares sobre a ação anti-inflamatória e antinociceptiva da *W. viscosissima*, juntamente com seus aspectos antioxidantes, previamente elucidados em testes *in vitro* por Ferreira et al. (2019), sustentam a hipótese de que esse vegetal pode promover o controle da dor e redução da inflamação com a vantagem da possibilidade de ação antioxidante evidenciando a relevância deste trabalho.

REFERENCIAL TEÓRICO

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DOR E NOCICEPÇÃO

A dor desempenha um papel fisiológico fundamental, sendo responsável pelo controle da homeostasia do organismo. A sensação dolorosa representa um dos principais sinais clínicos e funciona como um sistema de alerta do organismo quando qualquer fator ameaça à integridade física do mesmo (CHAPMAN; GRAVRIN, 1999; JULIUS, BASBAUM, 2001). Normalmente, quando ocorre dano tecidual a dor será acompanhada de inflamação, assim classificada como dor inflamatória (nociceptiva) na tentativa de restabelecer a homeostase do organismo (KLAUMANN; WOUK; SILLAS, 2008; RAJA et al., 2020). A dor pode ser classificada conforme a característica temporal em dor aguda (curta duração) e crônica (longa duração) (KLAUMANN; WOUK; SILLAS, 2008; COGHIL, 2020).

Estima-se que a prevalência de dor crônica no mundo encontra-se em torno de 10,1 a 55,5%, com uma média de 35,5% segundo a *International Association for the Study of Pain* (IASP). O Brasil carece de estudos epidemiológicos acerca da dor e pesquisas confirmam uma incidência similar a mundial descrita pelo IASP (VASCONCELOS, ARAÚJO, 2018). Segundo a Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor (SBED), a dor crônica atinge pelo menos 30% das pessoas durante algum momento de suas vidas, podendo chegar a 50% e 10 a 40% dos casos tem duração superior a um dia. A estatística oficial da dor no Brasil ainda é inexistente, mas sua ocorrência tem aumentado nos últimos anos, constituindo a principal causa de limitação, incapacitação para o trabalho, sofrimento, gerando graves consequências psicossociais e econômicas (SBED, 2009).

A dor manifesta-se de forma subjetiva por sofrer influência de experiências prévias, que irão determinar a individualidade de sua expressão (CÂMARA, 2009). Ou seja, a compreensão da mesma ainda é limitada, visto que o Sistema Nervoso Central (SNC) apresenta mecanismos que processam informações nociceptivas subjetivas a experiência de dor, perante tal complexidade surge os desafios para tratar a dor (COGHIL, 2020; SBED, 2020).

A nocicepção é resultante do dano mecânico, da exposição a intensas temperaturas ou estímulos químicos, os quais são detectados por uma subpopulação de fibras nervosas periféricas, chamadas nociceptores, que são ativados por estímulos capazes de causar dano tecidual. Os nociceptores são excitados apenas quando as

intensidades dos estímulos atingem o nível nocivo, assim sugerindo que os mesmos apresentem propriedade moleculares e biofísicas que permitem detectar seletivamente e responder aos estímulos prejudiciais (JULIUS; BASBAUM, 2001; BASBAUM et al, 2009).

Existem duas classes gerais de nociceptores: a primeira que apresenta fibra A δ (delta) de diâmetro médio, axônios mielinizados, os quais mediam potenciais de ação de condução rápida, caracterizando a dor aguda; e a segunda classe são as fibras C, as quais são de diâmetro pequeno, cujos axônios são não-mielinizados e transmitem estímulos dolorosos de forma lenta, ou tardia, e difusa (Figura 1). As fibras C compreendem cerca de 70% de todos os nociceptores do nosso organismo (JULIUS; BASBAUM, 2001; STUCKY; GOLD; ZHANG, 2001; BASBAUM et al, 2009; MARCHAND, 2021).

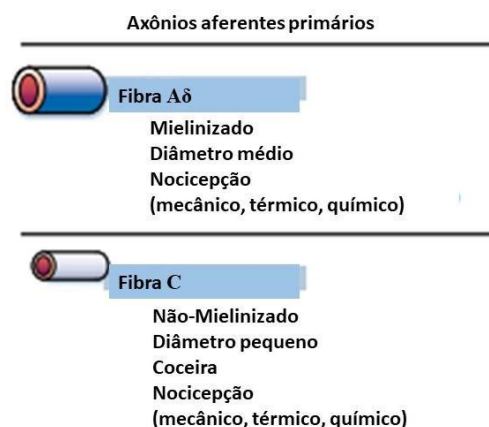


Figura 1. Classes principais de nociceptores.

Fonte: Adaptado de Julius; Basbaum, 2001.

O processamento nociceptivo ocorre dentro do SNC e a princípio dentro da medula espinhal (COGHIL, 2020). No entanto esta cascata de nocicepção se precede pela transdução (Figura 2A). A transdução origina o processo doloroso que corresponde a uma transformação dos estímulos agressivos em potenciais de ação. Tais potenciais são transmitidos para o SNC, influenciados pela inflamação e por estímulos ambientais, físicos ou químicos, por meio das fibras nervosas periféricas do tipo A δ e C, como apresentadas anteriormente, que conduzem o estímulo em diferentes velocidades (Figura 2A) (ABACHEN; SEHDEV, 2019; KEALY et al., 2020). Na etapa de transdução,

existe a liberação de citocinas, serotonina, noradrenalina, bradicinina, histamina, substância P, prostaglandinas e leucotrienos, em consequência do processo inflamatório, assim intensificando o efeito doloroso (Figura 2B) (BORGES et al., 2013; YOUNGBARE-ZIEBROU, 2016; CHEN; SEHDEV, 2019).

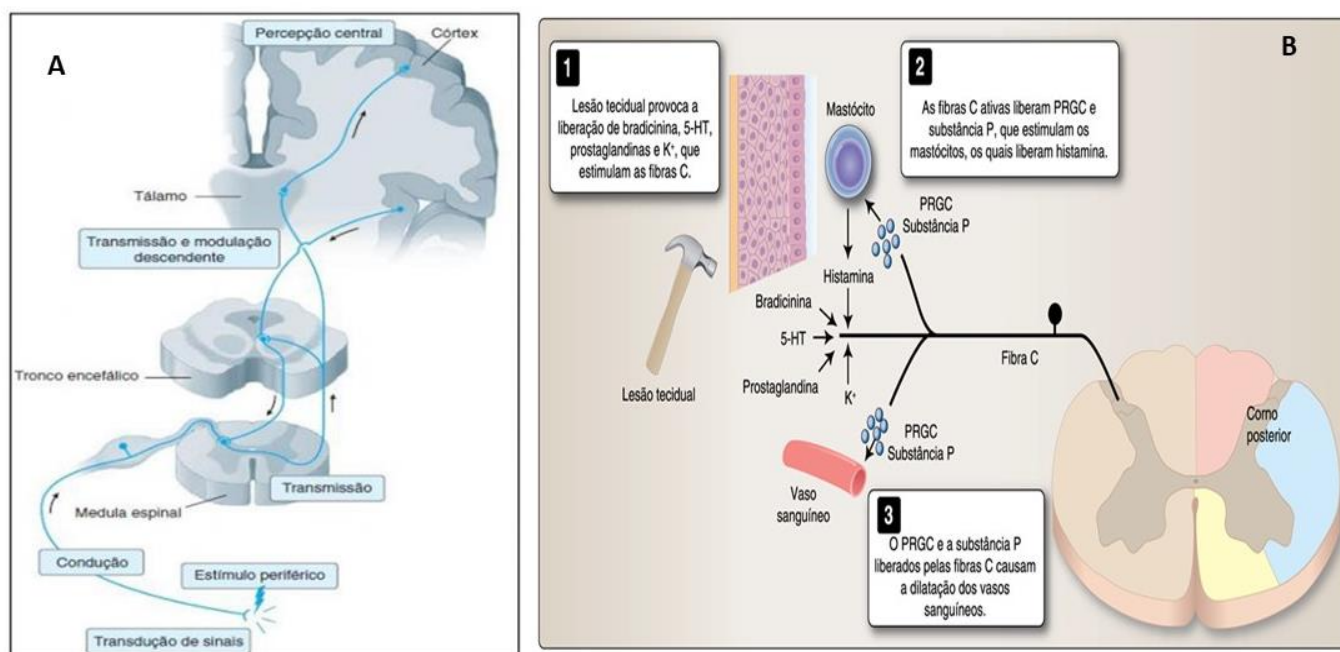


Figura 2. Esquematização da nocicepção (A) e transdução (B).

Fonte: Adaptado de Golan, 2009.

As substâncias, ou fármacos com ação analgésica apresentam um importante papel no tratamento da dor, a qual é considerada um problema de saúde pública. Abordagens terapêuticas diversas têm sido utilizadas com a finalidade de atenuá-la, uma vez que a dor está relacionada a diferentes condições patológicas e representa o sintoma que mais causa sofrimento aos indivíduos (STUCKY; GOLD; ZHANG, 2001; BRENANN; CARR; COUSINS, 2007; TRACEY; MANTYH, 2007).

O desenvolvimento de novos fármacos analgésicos e anti-inflamatórios tem sido importante objeto de estudo por muitos grupos de pesquisa, e as plantas medicinais

surgem como uma fonte muito promissora de compostos com propriedades farmacológicas visto que compostos com estruturas químicas variadas já foram isoladas de plantas, cujos seus princípios ativos se destacam com atividades biológicas e/ou farmacológicas. A avaliação do potencial terapêutico de plantas medicinais e de alguns de seus constituintes, tais como flavonoides, alcaloides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, lignanas, entre outros, tem sido objeto de incessantes estudos, onde já foram comprovadas as ações farmacológicas através de diversos testes pré-clínicos com animais (FAUSTINO; ALMEIDA; ANDREATINI, 2010; SOUTO et al., 2011; SILVA et al., 2009; OLIVEIRA; SOUZA; ALMEIDA, 2008; AMARAL et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2007; ROCHA et al., 2007a; SAÚDE-GUIMARÃES; FARIA, 2007; QUINTANS-JÚNIOR et al., 2008; SOUSA et al., 2008; PEREIRA et al., 2012).

A busca da população pelas plantas medicinais incentivou os pesquisadores e a indústria farmacêutica a investirem mais nas pesquisas de novos fármacos (SOUSA et al., 2008). Portanto, há um crescente interesse da comunidade científica em elucidar os mecanismos responsáveis pelos efeitos de plantas medicinais, tão utilizadas empiricamente, bem como de seus constituintes químicos, a fim de tornar o seu uso mais eficaz e com menos efeitos adversos (QI; WANG; YUAN, 2011).

Testes para a detecção das atividades analgésicas são importantes para o desenvolvimento de fármacos a partir de plantas medicinais (AVOSEH et al., 2019). Assim, inúmeros grupos de pesquisa em todo o mundo têm voltado sua atenção para validação do uso de plantas medicinais e conhecimento dos seus metabólitos secundários na perspectiva de encontrar substâncias similares à morfina, alcaloide, com menos efeitos colaterais e economicamente acessíveis à população (OLIVEIRA, 2006; SILVA et al. 2008; CALIXTO et al., 2000).

2.2 INFLAMAÇÃO AGUDA

A inflamação é um processo adaptativo aos estímulos nocivos, aos quais o corpo humano está constantemente exposto, ou seja, é uma resposta do organismo perante uma agressão sofrida, assim fazendo parte de um mecanismo de defesa (VARELA et al., 2018). No entanto, esta resposta inflamatória aguda pode promover um desequilíbrio no sistema, assim proporcionando uma produção exacerbada de mediadores da inflamação, como citocinas pro-inflamatórias (Interleucina 1 β , Interleucina 6, Fator de necrose tumoral -TNF- α), prostaglandinas e espécies reativas de oxigênio (ROS)

(YOUGBARE-ZIEBROU et al., 2016; BARTH et al, 2016; CHIN, 2016; MUNSHI et al., 2019). Segundo Baradi et al. (2010):

“A inflamação é conhecida desde a Antiguidade. O primeiro a descrevê-la em seus constituintes fundamentais foi Aurélio Cornélio Celso, na Roma Antiga, cerca de 50 a.C. Já no século XIX, o patologista alemão Rudolf Virchow introduziu o conceito de perda funcional e estabeleceu as bases fisiopatológicas do processo inflamatório” (BARADI; CAROBREZ; PINTO, 2010).

O processo inflamatório pode ser classificado em agudo ou crônico (Figura 3A), o qual pode ser decorrente da exposição a microrganismos, agentes irritantes, bem como consequência de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT). Neste processo pode ocorrer a expressão de cicloxigenase 2 (COX-2), enzima responsável pela produção de prostaglandinas, a partir do ácido araquidônico, por meio da via inflamatória. Assim como a inflamação pode estimular a formação de espécies reativas de oxigênio (EROS) e nitrogênio (ERNS), aumento da migração celular e induzir a degranulação de mastócitos, sendo este último responsável pela liberação de histamina, envolvido na formação do edema (ARULSELVAN et al., 2016; YOUGBARE-ZIEBROU et al., 2016; SOUSA-NETO et al., 2018).

Em destaque para a presente tese a inflamação aguda consiste em processo imediato, tem curta duração, a qual pode durar minutos ou até dias, caracterizada pelo aumento de proteínas plasmáticas de fase aguda e movimentação de leucócitos em área extravascular. A inflamação aguda é mediada pela imunidade inata, primeira linha de defesa do organismo, com envolvimento de células mieloides como neutrófilos e basófilos, os quais são importantes para proporcionar a retomada da homeostase (Figura 3B) (ABBAS et al., 2014; ARULSELVAN et al., 2016).

Existem três etapas principais perante as respostas inflamatórias agudas, as quais incluem aumento do fluxo sanguíneo para inflamar a área, seguido por vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, carregada com microcirculação e migração de leucócitos fagocíticos para o tecido. Essa resposta gera sintomas clínicos clássicos de inflamação como inchaço, vermelhidão, dor, calor e perda de função (STEWART; BEART, 2016; ARULSELVAN et al., 2016).

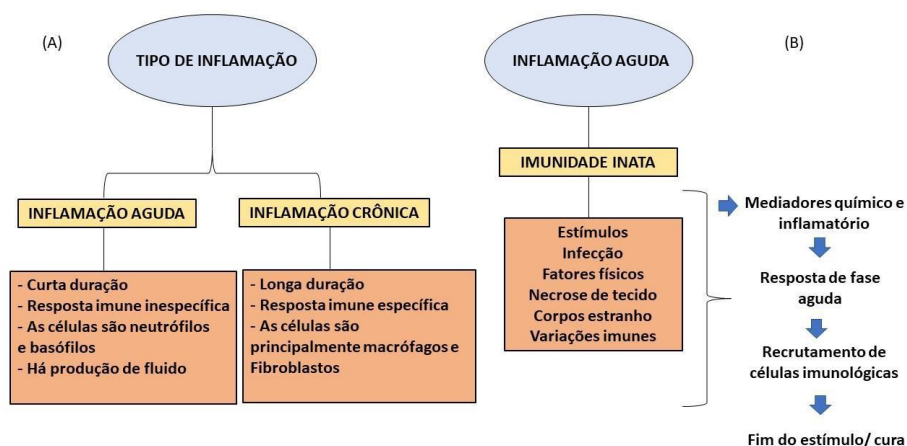


Figura 3. (A) Classificação da inflamação categorizada por duração e funções imunológicas. (B) Vias da inflamação aguda e seus processos de ativação.

Fonte: Adaptado de Arulselvan et al., 2016.

Na resposta inflamatória, os leucócitos estão presentes na localidade do dano tecidual, criando o chamado “Sistema respiratório de explosão”, o qual resulta no aumento da absorção de oxigênio, deste modo promove a intensificação da produção e liberação de EROS, de forma descontrolada, na área danificada e consequentemente o estresse oxidativo. Assim este meio inflamatório e/ou oxidativo prejudicial à saúde (Figura 4) (COUSSENS et al., 2002; HUSSAIN et al., 2003).



Figura 4. Estresse oxidativo e inflamação: desequilíbrio de antioxidantes e radicais livres.

Fonte: Adaptado de Arulselvan et al., 2016.

2.3 ESTRESSE OXIDATIVO

Os radicais livres têm um número ímpar de elétrons, que os tornam altamente reativos e instáveis. Consequentemente, eles podem reagir rapidamente com outras substâncias, tentando capturar o elétron necessário para obter a estabilidade. E quando o organismo não consegue promover a homeostase, através do equilíbrio entre a produção de EROS e a defesa do sistema antioxidante, o chamado "estado redox", ocorre consequentemente o estresse oxidativo (Figura 4) (ARULSELVAN et al., 2016; POL et al., 2019).

O metabolismo celular naturalmente produz EROS, os quais são derivados de radicais livres, como oxigênio singlete e peróxido de hidrogênio; bem como é capaz de produzir espécies reativas de nitrogênio (ERNS). A maioria das EROS (peróxido de hidrogênio, ânion superóxido) são produzidas nas células, através da cadeia respiratória, metabolismo oxidativo, por meio da produção de trifosfato de adenosina (ATP), em nível mitocondrial, e desempenham papéis cruciais como mensageiros secundários na ativação das vias de sinalização em células animais e vegetais, e funções como transdução de sinal, expressão gene e ativação de receptores (TAN; NORHAIZAN; LIEW, 2018; SENONER; DICHTL, 2019).

O organismo é constituído por um sistema antioxidante, formado por substâncias antioxidantes endógenas (ex. superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase) e exógenas (ex. beta-caroteno, vitamina E, polifenóis, ácido ascórbico) (Figura 5), cujo objetivo é manter a homeostase entre a produção e remoção dos radicais livres (SENONER; DICHTL, 2019). Assim, a disfunção mitocondrial que promove a produção descontrolada de ROS associado à destruição ou deficiência de componentes do sistema antioxidante acarreta no desequilíbrio deste sistema, ou seja, o mesmo deixa de ser capaz de neutralizá-las resultando no estresse oxidativo (Figura 5) (CHEN; ZHONG, 2014; HUSSAIN et al., 2016).

No estresse oxidativo em nível mitocondrial, a curto prazo, as EROS iniciam o processo inflamatório, visto que são considerados estimuladores da inflamação, resultando na ativação principalmente do fator nuclear kappa B (NF- κ B), onde as principais estruturas afetadas que são alvos do estresse e consequentemente do processo inflamatório são: proteínas, lipídios, DNA e/ou RNA. Assim, perante a tentativa de controlar tanto a produção exacerbada de ROS como a inflamação, já que existe uma

relação estreita entre estresse oxidativo e inflamações, os fitoquímicos, como os polifenóis, vem sendo descritos na literatura como sendo capazes de modular o processo inflamatório decorrente ao seu potencial antioxidante (HUSSAIN et al., 2016; NORHAIZAN; LIEW, 2018).

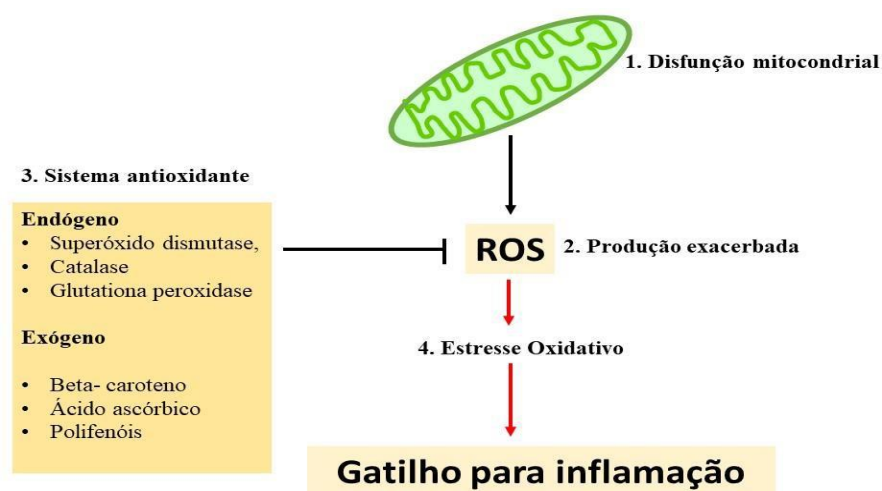


Figura 5. Disfunção mitocondrial como gatilho do estresse oxidativo e inflamação.

Fonte: Autor, 2021.

2.4 FAMÍLIA MALVACEAE

A família Malvaceae é constituída por nove subfamílias, destacando-se: Grewioideae Hochr., Brownlowioideae Burret, Bombacoideae Burnett, Malvoideae Burnett, Helicterioideae (CONCEIÇÃO; LIMA, 2016). São constituídas por 244 gêneros e 4225 espécies entre ervas, arbusto e árvores (STEVENS, 2003; ABAT et al., 2017). Os membros desta família encontram-se em quase todas as partes do mundo, com exceção de regiões muito frias, e são particularmente abundantes nas regiões tropicais, principalmente na América do Sul (Figura 6) (HEYWOOD, 1993). Muitas espécies da família Malvaceae são largamente usadas na terapêutica, como emolientes, anti-febris, diuréticos, anti-inflamatórios e no tratamento de reumatismos, asma e distúrbios gastrointestinais, entre outras aplicações (AHMED et al., 1990). No Brasil, Barroso et al. (1977) menciona a ocorrência de 68 gêneros e 735 espécies distribuídas por todo território (GRINGS; BOLDRINI, 2011). Diversos tipos de metabólitos secundários são encontrados na família Malvaceae, dentre eles: esteróides, terpenos, ácidos fenólicos (AHMED et al., 1990; AHMED et al., 1991; SHARMA; AHMAD,

1989), alcalóides (GUNATILAKA et al., 1980), bem como flavonóides (BILLETER et al, 1991; ELLIGER, 1984; SILVA et al., 2005) e cumarinas (SILVA, 2004).

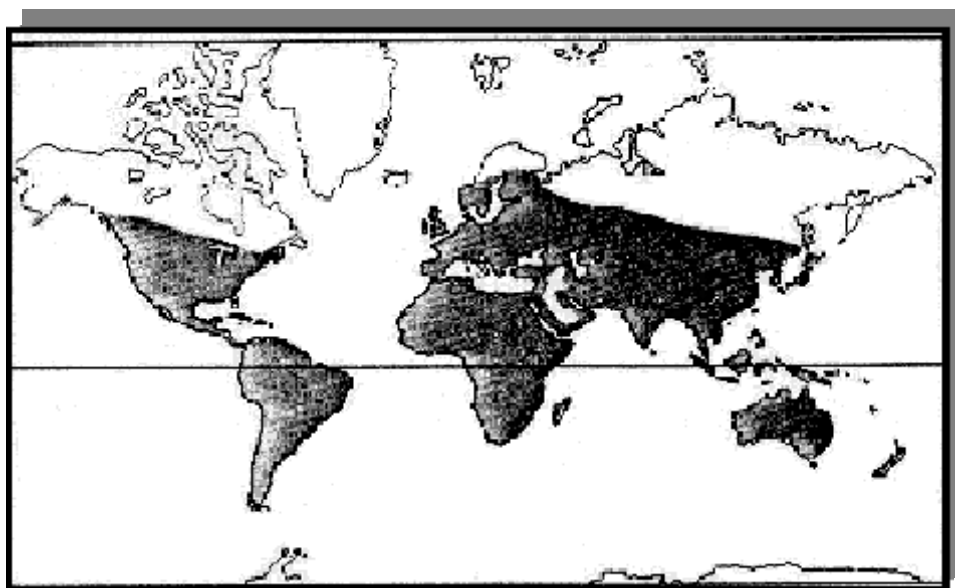


Figura 6. Distribuição de espécies de Malvaceae no mundo

Fonte: Heywood (1993).

2.2.1 *Waltheria viscosissima* A. St. Hil - Malvaceae

A *Waltheria* corresponde a um gênero pertencente à subfamília denominada de Sterculiaceae da família Malvaceae. Este gênero encontra-se abundante na América, destacando o nordeste do Brasil, México, Estados Unidos, norte da Argentina, Peru e Paraguai (Figura 7) (CORRÊA, 1931; VASQUES et al, 1999; VASQUES et al, 2003; SABA; SANTOS, 2017). Há relatos na literatura de entorno de 50 a 60 espécies de *Waltheria* que já foram identificadas, sendo no Brasil identificadas 22 espécies, dentre estas se destacam *W. indica* L., *W. brachypetala* Turks, *W. communis* A. St. Hil, *W. douradinha*, St. Hilaire, *W. viscosissima* A. St. Hil. Sendo a última conhecida pela medicina popular por apresentar propriedades como ação expectorante, antitussígena, anti-hipertensiva e anti-ulcerogênica (CORRÊA, 1931; CORRÊA, 1984; VASQUES et al, 1999; MOREIRA; BRAGANÇA, 2001). Na tabela 1 pode-se destacar as principais propriedades bioativos do gênero *Waltheria* publicados na literatura científica.

Tabela 1. Propriedades bioativas do gênero *Waltheria*.

AUTOR	ESPÉCIE	MATERIAL BIOATIVO	TIPO DE TESTE	ATIVIDADE	COMPONENTES ISOLADOS	ANO
Yin et al.	<i>Waltheria Indica</i>	Microemulsão a partir do extrato bruto	<i>In vitro</i>	Atividade antifúngica contra <i>Phytophthora capsici</i>	-	2021
Cretton et al.	<i>Waltheria Indica</i>	Extrato Bruto das partes aéreas	<i>In vitro</i>	Antitripanossômica, antichagásticos	8-desmetoxivalteriona F, waltheriones RV, 1-metoxivalteriona O, (S) -15 -hydroxywaltherione G, (8R) -8-hydroxywaltherione M, (9S, 13S) -2-hydroxymethylwaltherione C (8), (9S, 10S, 13S) -10-hydroxywaltherione C, e (S) -13-metoxialteriona V, bem como melovinona e 5'-metoxivalteriona A	2020
Laczko et al.	<i>Waltheria Indica</i>	Extrato Bruto	<i>In vitro</i>	Anti-inflamatória, modulação da expressão 1L-1 β , TNF- α , NFkB	Flavonoide (quercitina)	2020
Basiru et al.	<i>Waltheria Indica</i>	Extrato bruto das partes aéreas	<i>In vivo</i>	Atividade adversa na reprodução masculina	-	2019
Jang et al.	<i>Waltheria Indica</i>	Extrato das partes aéreas	<i>In vitro</i>	nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i>	alcaloides (4-quinolona, 5'-metoxialteriona A, waltherione- A e waltherione- C)	2019
Ferreira et al.	<i>Waltheria viscosissima</i>	Extrato das partes aéreas	<i>In vitro</i>	Larvicida (<i>Aedes aegypti</i>)	esteróides, triterpenos, alcalóides e oito flavonóides; waltherione-A, waltherione-B	2019

Tabela 1. Continuação: Propriedades bioativas do gênero *Waltheria*.

Monteillier et al.	<i>Waltheria Indica</i>	Extrato diclorometado das partes aéreas	<i>In vitro</i>	Anti-inflamatório e Anticarcinogênico	-	2017
Mundo et al.	<i>Waltheria Indica</i>	extrato solúvel em metanol das partes aéreas	<i>In vivo</i>	anticonvulsivante	-	2017
Cretton et al.	<i>Waltheria Indica</i>	Extrato diclorometado das partes aéreas	<i>In vitro</i>	Antifúngica Contra <i>Candida albicans</i>	Flavonoides (Oxianina, Vitexicarpina, Crisopenol, Flidulanina, 5-hidroxi -3,7,4'-trimetoxiflavona) e alcaloides (Quinolonas, waltherione, vanessina)	2016
Cretton et al.	<i>Waltheria Indica</i>	Extrato diclorometado das partes aéreas	<i>In vitro</i>	antitripanossômica do <i>Trypanosoma brucei</i> e <i>T. cruzi</i>	alcalóides (adouetina X, waltherione- A e C), e derivados pentacíclicos triterpênicos (ácido betulínico, 3 β -acetoxi Éster metílico do ácido - 27-trans-cafeoiloxiolean-12-en-28-óico e éster metílico do ácido 3 β -acetoxi-27-cis-cafeoiloxiolean-12-en-28-óico)	2015
Cretton et al.	<i>Waltheria Indica</i>	Fração alcalóide das partes aéreas	<i>In vitro</i>	antitripanossomais	-	2014
Gressler et al.	<i>Waltheria douradinha</i>	Fração alcalóide do caule	<i>In vitro</i>	antimicrobiana	Alcaloides (quinelona, watherione B, vanessina, watherione A)	2008
Lima et al.	<i>Waltheria brachypetala</i>	Fração alcalóide das folhas	<i>In vitro</i>	acetilcolinesterásica	alcaloides	2009
Schimdt et al.	<i>Waltheria douradinha</i>	Extrato lipofílico	<i>In vitro</i>	Anti-inflamatória, cicatrizante	-	2009
Hoelzel et al.	<i>Waltheria douradinha</i>	Extrato bruto da casca da raiz	<i>In vitro</i>	antimicrobiana	Alcaloide (quinelona waltherione-A)	2005
Vasques et al.	<i>Waltheria viscosissima</i>	Extrato etanólico das partes aéreas	<i>In vivo</i>	Cardioprotetora	-	1999
Zavala et al.	<i>Waltheria indica</i>	Extrato aquoso	<i>In vivo</i>	Antidiarreica	-	1998

Fonte: Viegas et al. (2022).

A *W. viscosissima* (Figura 8) é conhecida popularmente como malva viscosa ou malva branca, a mesma tem ampla distribuição no México até o sul do Brasil. É considerada uma planta nativa do Brasil podendo ser encontrada na Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, e nas regiões norte e nordeste, exceto Acre e Piauí, respectivamente (Figura 9) (CORRÊA, 1931; CORRÊA, 1984; VASQUES et al, 1999). Quanto aos seus estudos bioativos elucidados, pode ser citado dois estudos importantes: o de Ferreira et al. (2019), a partir do extrato bruto das partes aéreas da *W. viscosissima*, a qual apresentou atividade larvicida (*Aedes aegypti*) *in vitro*, e as classes de metabólitos encontrados foram esteróides, triterpenos, alcalóides (Waltheriona A e Waltheriona B) e oito flavonóides. E o estudo *in vivo* por Vasques et al. (1999) com o extrato etanólico das partes aéreas da *W. viscosissima*, a qual demonstrou ação cardioprotetora (Tabela 1). Os estudos científicos com *W. viscosissima* para elucidar dados obtidos da medicina popular ainda são escassos, assim sendo ressaltada a importância de que mais pesquisas sejam realizadas.

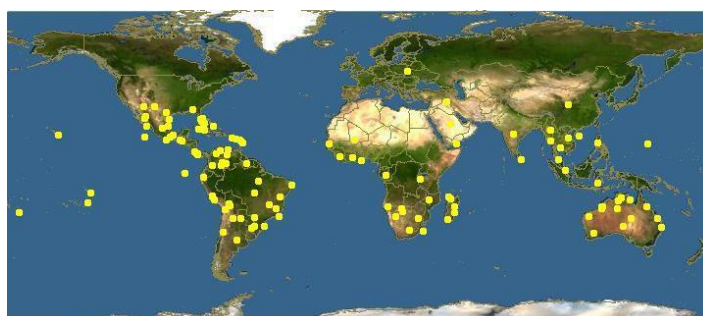


Figura 7. Distribuição mundial do gênero *Waltheria*. Disponível em: <http://www.discoverlife.org>. Acesso 24 de maio de 2020.



Figura 8. *W. viscosissima*.

Fonte: Moreira; Bragança, 2011.

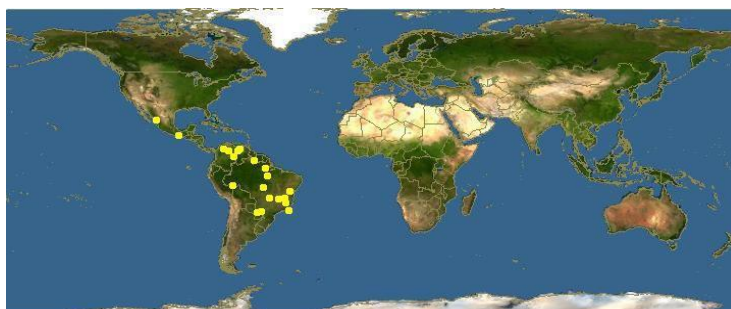


Figura 9. Distribuição mundial do gênero *W. viscosissima*. Disponível em: <http://www.discoverlife.org>. Acesso 24 de maio de 2020.

Como descrito anteriormente por meio dos levantamentos literários, o Brasil é caracterizado por apresentar uma grande biodiversidade de plantas, destacando as com propriedades medicinais, no entanto, muitas destas propriedades conhecidas apenas pelos ditos populares, a conhecida medicina popular. Dessa forma, uma boa parte dessa proporção de plantas pertencentes à biodiversidade brasileira ainda não foram investigadas em relação as suas potencialidades terapêuticas. Dentre as plantas que apresentam benefícios terapêuticos, a família Malvaceae vem sendo bastante estudada e ela é constituída por nove subfamílias, 243 gêneros e 4225 espécies, dentre elas a *W. viscosissima*, a qual apresenta poucos relatos na literatura acerca das suas propriedades bioativas. Portanto, é de suma importância a elucidação das propriedades químicas e farmacológicas para contribuir para a disseminação do seu potencial terapêutico na literatura mundial. Diante do exposto o desenvolvimento da presente tese permitiu investigar o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório, bem como os mecanismos de ação associados às ações antinociceptivas, além do seu possível papel antioxidante. Uma vez que o desenvolvimento de novos fármacos analgésicos e anti-inflamatórios têm sido importante objeto de estudo por muitos grupos de pesquisa, e as plantas medicinais surgem como uma fonte muito promissora de compostos com propriedades farmacológicas.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. GERAIS

- Avaliar a atividade farmacológica antinociceptiva, anti-inflamatória e antioxidante do extrato etanólico bruto e fração alcalóide das partes aéreas da *Waltheria viscosissima* em camundongos Swiss (*Mus musculus*).

3.2 ESPECÍFICOS

- Realizar a toxicidade aguda e triagem comportamental;
- Avaliar a atividade antinociceptiva por meio do teste de contorção abdominal induzido por ácido acético e o teste de formalina;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória por meio do edema de pata induzido por prostaglandina E₂;
- Investigar a influência do extrato e fração alcalóide das partes aéreas da *Waltheria viscosissima* na migração celular no modelo de peritonite induzida pela carragenina;
- Avaliar a capacidade antioxidante total (CAOT) e peroxidação lipídica *extra vitro* do extrato e da fração alcalóide das partes aéreas da *Waltheria viscosissima* no líquido peritoneal de animais com inflamação induzida;
- Investigar o mecanismo de ação da melhor dose através da participação de receptores adenosinérgicos, opioides e canais de K⁺_{ATP} envolvidos na antinocicepção causada pelo extrato e fração alcalóide das partes aéreas da *Waltheria viscosissima* no teste da formalina;

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos Swiss (*Mus musculus*) machos (Figura 10), albinos com peso variando entre 25 - 30 g, com aproximadamente 2 a 3 meses de idade. Os animais foram provenientes do Biotério Convencional do laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), da Universidade Federal de Pernambuco e mantidos em gaiolas de plástico (polipropileno), com grades em INOX, esterilizadas, respeitando o número máximo de animais por caixa. Os animais tiveram livre acesso à água e ração do tipo pellets (Purina®) sob condições de temperatura entre 21 ± 2 °C, com um ciclo de claro e escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 06h00 às 18h00 horas e a fase escura das 18h00 às 06h00 horas em sala reservada com exaustor de ar. O número total de animais por grupo experimental foi de 6, sendo uma quantidade mínima para obter relevância estatística ($p < 0,05$), bem como um bom erro padrão, conforme estudos já previamente publicados e dos quais, utilizou-se a mesma metodologia para testes de atividade antinociceptiva e anti-inflamatória preconizadas neste estudo, como Paiva et al. (2013); Tekulu et al. (2020) e assim evitar necessidades de retestes. Quanto ao Teste de toxicidade aguda foi utilizado um número de 3 animais por grupo, conforme recomendação da OECD-OCDE 423 (2001), bem como a triagem farmacológica, segundo Almeida; Oliveira (2006).

Todos os testes foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Paraíba, Brasil para uso de animais em pesquisas certificado pelo nº 6450091221.



Figura 10. Camundongo Swiss

Fonte: Pereira (2013).

4.2 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Foram utilizados o Extrato etanólico bruto das partes aéreas da *W. viscosissima* (EEB_{Wa.v}) e a Fração alcaloide das partes aéreas da *W. viscosissima* (FAW_{Wa.v}) das partes aéreas da *Waltheria viscosissima* fornecidos pela equipe da Prof^a Dr^a Maria de Fátima Vanderlei de Souza, do laboratório de Fitoquímica Professor Dr. Raimundo Braz Filho, Universidade Federal da Paraíba. Esta pesquisa foi registrada no Sistema Nacional de Gestão de Recursos Genéticos e Conhecimentos Tradicionais Associados (SisGen - A568B8A).

Os testes referentes à atividade psicofarmacológica e atividade anti-inflamatória foram realizados no Laboratório de Psicofarmacologia do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos, Universidade Federal da Paraíba. As análises da migração celular do teste de atividade anti-inflamatória ocorreram no Laboratório de Imunofarmacologia da Universidade Federal da Paraíba e o teste de Capacidade Antioxidante Total e Peroxidação Lipídica foram realizados no Laboratório de Estudos Aplicados ao Treinamento Físico à Performance e Saúde, Departamento de Educação Física, da Universidade Federal da Paraíba, cujos respectivos estudos seguiram o delineamento experimental esquematizado na figura 11.

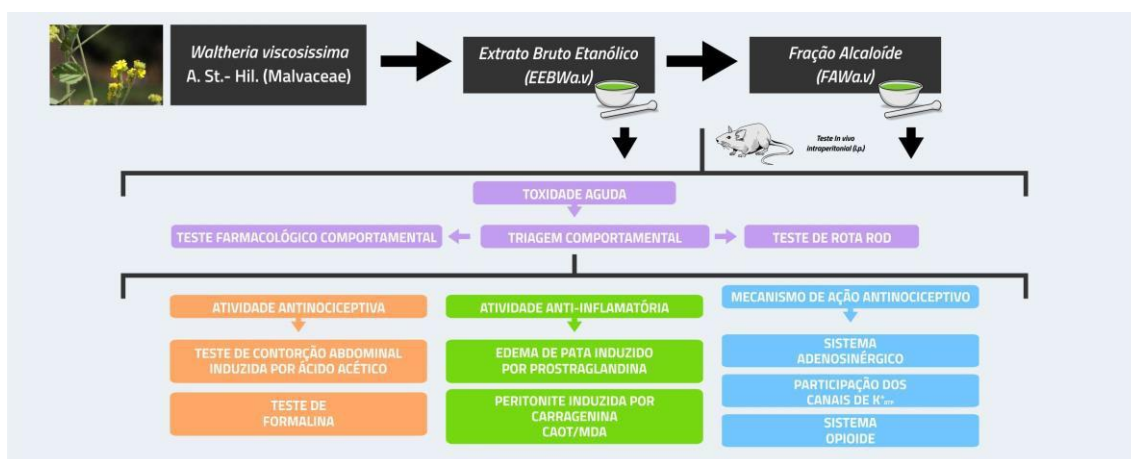


Figura 11. Deliniamento experimental do estudo do EEB_{Wa.v} e FAW_{Wa.v} das partes aéreas da *W. viscosissima*

Fonte: adaptado de Viegas, 2022.

Os camundongos foram previamente alojados em gaiolas de plástico (polipropileno) com pelo menos 120 min antecedentes ao experimento, com o objetivo de minimizar possíveis alterações comportamentais decorrentes da mudança de ambiente

dos animais, permitindo assim, promover a adaptação à sala de experimentação (21 ± 2 °C). Os mesmos ficaram sem água e ração por 60 min antes dos testes.

4.3 AVALIAÇÃO DA TOXIDADE AGUDA DO EEBW_{a.v} E FAW_{a.v}

A avaliação de toxicidade aguda do EEBW_{a.v} e FAW_{a.v} das partes aéreas da *W. viscosissima* foi baseada segundo a OECD-OCDE 423 (2001). A qual consiste na diretriz de determinação de toxicidade aguda de produtos químicos a partir de doses previamente definidas.

Para o presente teste foram utilizados camundongos suíços machos (n=3), tratados com 2000 mg/kg, administração intraperitoneal (Figura 12), do EEBW_{a.v} e FAW_{a.v}. O grupo controle recebeu solução salina a 0,9%. Após 14 dias foram documentadas o número de animais vivos e mortos.

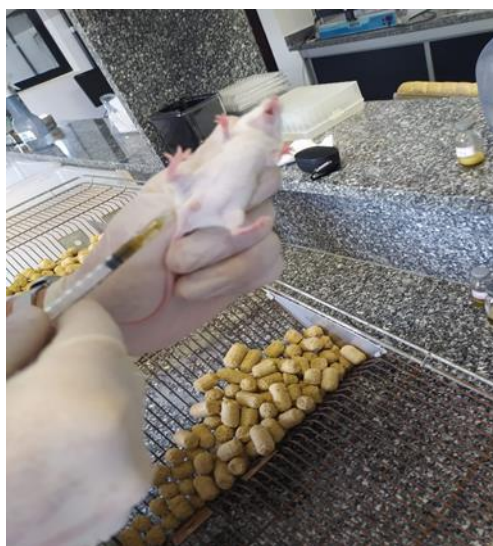


Figura 12. Camundongo Swiss com administração intraperitoneal.

Fonte: Autor, 2021.

4.4 TRIAGEM COMPORTAMENTAL

4.4.1 Triagem Farmacológica comportamental com EEBW_{a.v}

A triagem farmacológica foi realizada segundo o protocolo de Almeida; Oliveira (2006), e consiste em uma técnica experimental simples que viabiliza verificar o potencial

terapêutico que o agente teste apresenta e em caso negativo, descartá-lo, assim evitando desperdício de tempo, droga e animais em experimentos mais específicos.

Para a avaliação do possível efeito de um composto no SNC, foi tomado como base o aparecimento de alguns sinais ou mesmo alteração do comportamento de camundongos como descrito no Quadro 1. Foram feitas anotações dos parâmetros comportamentais em intervalos compreendidos entre 0-30; 31-60; 61-120 e 121-240 minutos após o tratamento (Almeida; Oliveira., 2006) (Quadro 1). Diante o exposto foi avaliado a dose de 100 mg/kg como ponto de partida, valor referência nas citações literais do gênero, do extrato etanólico bruto das partes aéreas da *W. viscosissima*.

Quadro 1. Protocolo experimental utilizado na triagem farmacológica comportamental.

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	Quantificação dos efeitos: (0) sem efeito – (-) efeito diminuído – (+) efeito presente – (++) efeito intenso				
	TEMPO				
1. SNC: a) - ESTIMULANTE	Até 30´	60´	120´	180´	240´
Hiperatividade					
Irritabilidade					
Agressividade					
Tremores					
Convulsões					
Piloereção					
Movimento intenso das vibrissais					
1. SNC: b) - DEPRESSORA	Até 30´	60´	120´	180´	240´
Hipnose					
Ptose					
Sedação					
Anestesia					
Ataxia					
Reflexo do endireitamento					
Catatonía					
Analgesia					
Resposta ao toque diminuído					
Perda do reflexo corneal					
Perda do reflexo auricular					
1. SNC c) – OUTROS COMPORTAMENTOS	Até 30´	60´	120´	180´	240´
Ambulação					
Bocejo excessivo					
Grooming					
Rearing					
Escalar					
Vocalizar					
Sacudir a cabeça					
Contorções abdominais					
Abdução das patas do trem posterior					
Pedalar					
Estereotipia					
2. SN AUTÔNOMO	Até 30´	60´	120´		240´
Diarreia					
Constipação					
Defecação aumentada					
Respiração forçada					
Lacrimejamento					
Micção					
Salivação					
Cianose					
Tono muscular					
Força para agarrar					
3. MORTE	Até 30´	60´	120´	180´	240´
OBSERVAÇÕES:					

Fonte: Almeida; Oliveira, 2006.

4.4.2 Teste Rota Rod com EEBWa.v e FAWa.v

O teste Rota Rod corresponde a uma das principais abordagens acerca da caracterização comportamental em modelos animais. Esta técnica permite identificar prejuízos como: ataxia, sedação e hiperexcitabilidade, considerados efeitos adversos. O equipamento utilizado foi o EFF 412 *rota-rod* para camundongos (Insight-Brasil®) (Figura 13), o qual mede atividade motora, demonstrando alterações de equilíbrio e coordenação em animais de laboratório. Os animais foram divididos em oito grupos (n=6) e tal técnica foi realizada após os animais terem sido tratados com EEBWa.v e FAWa.v (50, 100, 200 mg/kg) das partes aéreas da *W. viscosíssima*, Diazepam (4 mg/kg) e Solução salina (0,9%), correspondente ao grupo controle, cujo componentes foram administrados pela via intraperitoneal (i.p.). Após 60 minutos os animais foram colocados com as quatro patas sobre uma barra giratória de diâmetro, elevado a 25 cm do piso, nas rotações de 15 e 30 rotações por minuto (rpm). Para cada animal foi registrado o tempo de permanência na barra em um período de até 3 (três) minutos (Figura 13), sendo o limite máximo de três quedas para cada animal (DUNHAM; MIYA, 1957). Os animais foram avaliados nos tempos de 60, 90 e 120 minutos após os tratamentos.



Figura 13. Rota Rod e registrado o tempo de permanência.

Fonte: autor, 2021.

4.5 ESTUDO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA COM EEBWa.v E FAWa.v

4.5.1 Teste das Contorções Abdominais Induzido por Ácido acético com EEBWa.v e FAWa.v

O teste de contorções abdominais tem como objetivo avaliar o estímulo nocivo mínimo por meio das contrações abdominais (VIDYALAKSHMI et al., 2010). Os animais foram divididos em oito grupos (n=6) e tratados com EEBWa.v e FAWa.v (50, 100 e 200 mg/kg, i.p.), morfina (10 mg/kg, i.p.), Solução Salina (0,9%, i.p.), controle. Estes, após sessenta minutos receberam a injeção de ácido acético (0,6%; 10 mg/kg) na cavidade peritoneal. Após 10 minutos da ministração do ácido os animais foram transferidos para caixas de observação, sendo então registrado a contagem do número de contorções (Figura 14) ocorridas em um intervalo de tempo pré-determinado, por vinte minutos, tomada como índice da resposta nociceptiva (KOSTER, 1959).



Figura 14. Contorções abdominais induzido por ácido acético.

Fonte: Autor, 2021.

4.5.2 Teste da Nocicepção Induzida por Formalina com EEBWa.v e FAWa.v

O teste da formalina foi realizado como descrito por Vaz et al. (1996) que é uma modificação do modelo inicialmente descrito por Hunskaar e Hole (1987). Os animais foram divididos em oito grupos (n=6) e tratados com EEBWa.v e FAWa.v (50, 100 e 200 mg/kg, i.p.), morfina (10 mg/kg, i.p.), Solução Salina (0,9%, ip.), controle. Após trinta minutos, foi injetada formalina (20µL, 2,5 %) na região intraplantar da pata posterior direita dos camundongos. Após a injeção da formalina, os camundongos foram colocados em um aparato triangular composto por duas paredes espelhadas e uma de vidro transparente (Figura 15), facilitando a visualização do animal para cronometrar o tempo de lambida da pata em duas fases (SHIBATA et al., 1989). A fase neurogênica (0-5 min) ocorre imediatamente após a administração da formalina, provocando uma resposta nociceptiva decorrente da estimulação química direta dos nociceptores e liberação de aminoácidos excitatórios (TJOLSEN et al., 1992); a inibição

dessa fase é indicativa de drogas analgésicas que atuam em nível central (HUNSKAAR; HOLE, 1987). Depois, há um período chamado de interfase (5-15 min), que é caracterizado pelos mecanismos endógenos de supressão da dor (HENRY et al., 1999; GAUMOND; SPOONER; MARCHAND, 2007). A fase inflamatória (15-30 min) é conhecida por um processo periférico, a qual ocorre liberação de mediadores como a serotonina, histamina, bradicinina e prostaglandina (PARADA et al., 2001).



Figura 15. Aparelho triangular espelhado para teste de Formalina.

Fonte: Autor, 2021.

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA COM EEBW_{a.v} E FAW_{a.v}

4.6.1 Teste de edema de pata Induzida por Prostaglandinas E₂

A atividade anti-inflamatória por meio de edema de pata induzido por prostaglandina E₂ (PGE₂) do EEBW_{a.v} e FAW_{a.v} foi avaliada de acordo com o método de Campos e Calixto (1995) com modificações. Foram avaliados 5 grupos com número de 6 animais, sendo o grupo EEBW_{a.v} e FAW_{a.v} (100 mg/kg i.p.), indometacina (10 mg/kg, i.p.), Solução Salina (0,9%, i.p.), correspondente ao grupo controle, e o grupo basal Salina (Animal sem edema induzido com prostaglandina). Os animais receberam após 1 h, com exceção o grupo basal, por via intraplantar na pata esquerda para induzir o processo inflamatório, consequentemente a formação do edema, 20 µl de salina tamponada contendo prostaglandinas E₂ (5 µg /pata). A mensuração da pata esquerda e direita ocorreram no tempo de 15, 30 e 60 min, após a administração da PGE₂ e para o

grupo basal (Figura 16) com auxílio do paquímetro digital e realizado cálculo para determinação do resultado final (Pata esquerda - Pata direita).

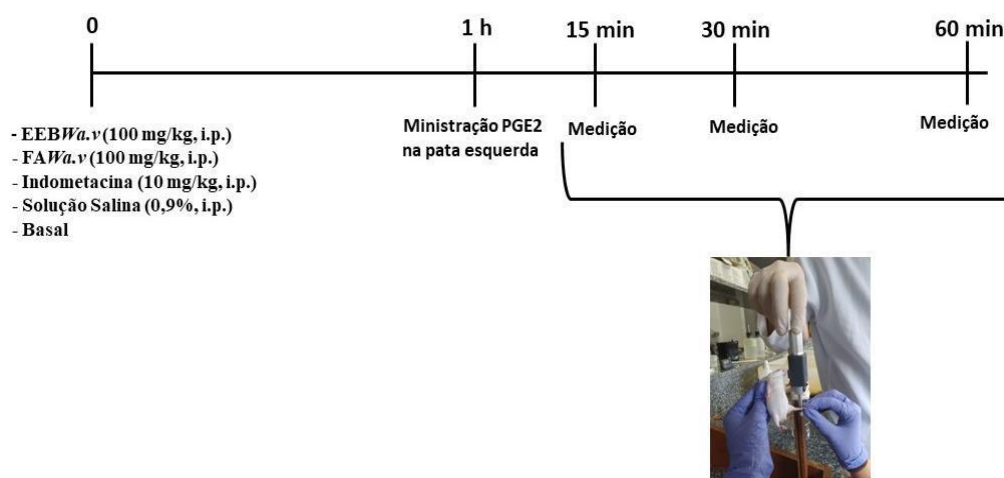


Figura 16. Delineamento experimental do teste de edema de pata induzido por PGE2.

Fonte: Autor, 2021.

4.6.2 Teste de Peritonite Induzida por Carragenina

Com a finalidade de avaliar a capacidade da substância teste em inibir a migração celular após a administração de um estímulo nocivo, utilizou-se o modelo de peritonite induzida por carragenina, pois esta substância produz uma resposta inflamatória aguda na cavidade peritoneal dos camundongos (HALL et al., 1998).

Para a peritonite induzida por carragenina, os animais foram separados em cinco grupos (n = 6). Grupo basal (animal sem carragenina), grupo controle, tratado com solução salina (0,9%, i.p.), grupo de intervenção EEBWa. e FAWa.v (100 mg/kg, i.p.) e o grupo padrão dexametasona (2 mg/kg, i.p.). Em todos os grupos tratados, com exceção do grupo basal, foi adicionado carragenina (solução 1%), após 30 minutos para induzir inflamação.

Quatro horas após a administração da carragenina, os animais foram eutanasiados e 300 µL de PBS (phosphate buffer solution) gelado foi injetado na cavidade peritoneal. Após massagem cuidadosa, o peritônio foi puncionado e o lavado coletado em tubos do tipo eppendorf e centrifugados (Mettich Zentrifugen®), 3000 rpm por 6 minutos, temperatura de 4 °C. As células presentes nos pellets foram suspensas e a amostra foi diluída com a solução de Turk 1:10 (Sigma-Aldrich®) em seguida, colocadas em uma lamela na Câmara Neubauer. A contagem foi realizada em um

microscópio óptico utilizando a objetiva de 40x (Olympus®). Os resultados foram expressos como número de células/ml (BASTOS et al, 2007; MELO et al, 2011). O sobrenadante foi armazenado no freezer em tubos do tipo eppendorf e com proteção da luz para serem utilizados para a realização dos experimentos de Capacidade Antioxidante Total, bem como para o teste de peroxidação lipídica.

4.7 TESTES DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAOT) COM EEBW_{a.v} E FAW_{a.v} DO FLUIDO PERITONIAL

A análise da capacidade antioxidante total (CAOT) foi realizada em triplicata com o líquido peritoneal do grupo de solução salina (Basal- animal sem carragenina) e grupos tratados com solução salina (0,9%, i.p.), o correspondente ao grupo controle; grupo de intervenção EEBW_{a.v} e FAW_{a.v} (100 mg / kg, ip) e dexametasona (2 mg / kg, i.p.).

A análise foi baseada no método descrito por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995) no qual uma alíquota de 1,25 mg de 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) foi diluída em 100 ml de etanol (álcool etílico absoluto 99,5%), mantida sob refrigeração e protegida da luz. Foram adicionados 3,9 ml da solução de DPPH a 100 µl de líquido peritoneal em tubos, que em seguida foram agitados em vórtex e deixados em repouso por 30 minutos. Posteriormente, foram centrifugados a 10.000 rpm à temperatura de 20 °C por 15 minutos e o sobrenadante utilizado para a realização da leitura em espectrofotômetro (Bioespectro® SP-220, Curitiba, Brasil), a um comprimento de onda de 515 nm. Os resultados foram expressos como percentual da atividade antioxidante (AOA):

$$AOA = \frac{100 - [DPPH \cdot R]_t}{[DPPH \cdot R]_B} \times 100$$

Onde [DPPH•R]_t e [DPPH•R]_B correspondem às concentrações de DPPH• remanescente após 30 minutos, avaliadas na amostra (t) e no branco (B) preparado com água destilada.

4.8 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA POR MALONDIALDEÍDO (MDA) COM EEBW_{a.v} E FAW_{a.v} DO FLUIDO PERITONEAL

A análise de peroxidação lipídica foi realizada em triplicata com o líquido peritoneal do grupo de solução salina (Basal- animal sem carragenina) e grupos tratados com solução salina (0,9%, i.p.), o correspondente ao grupo controle; grupo de intervenção EEBWa.v e FAWa.v (100 mg / kg, i.p.) e dexametasona (2 mg/kg, i.p.).

O Malondialdeído foi usado como um marcador de peroxidação lipídica, dosado no líquido peritoneal, de acordo com a metodologia descrita por Ohkawa; Ohishi; Yagi, (1979). A atividade oxidante foi quantificada a partir da peroxidação lipídica do MDA, por meio da reação do ácido tiobarbitúrico (TBARS), com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos. Em seguida, foi incubado em banho- maria a 37 °C por 60 minutos e a mistura precipitada com ácido perclórico à 35% e centrifugada a 14000 rpm por 10 minutos à 4 °C. O sobrenadante foi transferido para novas alíquotas e adicionado 400µl de ácido tiobarbitúrico a 0,6% e incubado a 95 – 100 °C, por 60 minutos. Após o resfriamento, o material foi lido em espectrofotômetro ultravioleta (Bioespectro, modelo SP 22, Brasil) a um comprimento de onda de 532 nm, em temperatura ambiente.

4.9 AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS MECANISMOS DE AÇÃO ENVOLVIDOS NA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA COM EEBWa.v E FAWa.v

4.9.1 Participação do Sistema Adenosinérgico

Para o teste de mecanismo pelo sistema adenosinérgico seguiu-se o modelo experimental de formalina, onde foi utilizado a cafeína como antagonista não- seletivo de receptores da adenosina para a determinação de um possível envolvimento do sistema de receptores adenosinérgicos no efeito antinociceptivo da *W. viscosissima* (ESSER; SAWYNOK, 2000). Para investigar tal mecanismo antinociceptivo do EEBWa.v e FAWa.v foi selecionado a dose de 100 mg/kg.

Os animais foram divididos em sete grupos (n=6), os quais receberam EEBWa.v e FAWa.v (100 mg/kg, i.p.); morfina (10 mg/kg, i.p.), cafeína (10 mg/kg, i.p.); EEBWa.v (100 mg/kg, i.p.) + cafeína (10 mg/kg, i.p.); FAWa.v (100 mg/kg, i.p.) + cafeína (10 mg/kg, i.p.); Solução Salina (0,9%, ip.), correspondente ao grupo controle. Os grupos EEBWa.v + cafeína e FAWa.v + cafeína foram pré-tratados com cafeína quinze minutos antes da administração do EEBWa.v e FAWa.v. Após trinta minutos

destes tratamentos, os animais foram submetidos ao teste da formalina (TJOLSEN et al., 1992).

4.9.2 Participação do Sistema opioide

A fim de avaliar a participação do sistema opioide sobre o efeito antinocetivo do EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas da *W. viscosissima*, foi utilizado a naloxona, um antagonista opióide não-seletivo (JIN et al., 2010). Para investigar tal mecanismo antinocetivo do EEBWa.v e FAWa.v foi selecionada a dose de 100 mg/kg.

Os animais foram divididos em oito grupos (n=6), os quais receberam EEBWa.v e FAWa.v (100 mg/kg, i.p.); Naloxona (5 mg/kg, i.p.); morfina (10 mg/kg, i.p.); EEBWa.v (100 mg/kg, i.p.) + Naloxona (5 mg/kg, i.p.); FAWa.v (100 mg/kg, i.p.) + Naloxona (5 mg/kg, i.p.); Morfina (10 mg/kg, i.p.) + Naloxona (5 mg/kg, i.p.); Solução Salina (0,9%, i.p.), correspondente ao grupo controle. Os grupos EEBWa.v (100 mg/kg, i.p.) + Naloxona (5 mg/kg, i.p.); FAWa.v (100 mg/kg, i.p.) + Naloxona (5 mg/kg, i.p.); Morfina (10 mg/kg, i.p.) + Naloxona (5 mg/kg, i.p.) foram pré-tratados com Naloxona quinze minutos antes da administração do EEBWa.v, FAWa.v e Morfina. Após trinta minutos destes tratamentos, os animais foram submetidos ao teste da formalina (TJOLSEN et al., 1992).

4.9.3 Participação dos Canais de K^{+}_{ATP}

Com o objetivo de verificar o envolvimento dos canais de K^{+}_{ATP} na atividade antinocetiva do EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas da *W. viscosissima*, foi utilizada a glibenclamida, pertencente ao grupo farmacológico das sulfoniluréias, que bloqueiam especificamente estes canais sensíveis a potássio (OCANA et al., 2004; LOPES et al., 2012). Para investigar esse mecanismo antinocetivo do EEBWa.v e FAWa.v foi utilizado a dose de 100 mg/kg.

Os animais foram divididos em sete grupos (n=6), os quais receberam EEBWa.v e FAWa.v (100 mg/kg, i.p.); glibenclamida (10 mg/kg, i.p.); morfina (10 mg/kg, i.p.); EEBWa.v (100 mg/kg, i.p.) + glibenclamida (10 mg/kg, i.p.); FAWa.v (100 mg/kg, i.p.) + glibenclamida (10 mg/kg, i.p.) e Solução Salina (0,9%, i.p.) correspondente ao grupo controle. Os grupos EEBWa.v + glibenclamida e FAWa.v + glibenclamida foram pré-tratados com glibenclamida quinze minutos antes da administração do EEBWa.v e

FAWa.v. Após trinta minutos destes tratamentos, os animais foram submetidos ao teste da formalina (TJOLSEN et al., 1992).

4. 10 MÉTODO DE EUTANÁSIA

Os animais foram eutanasiados seguindo as recomendações da Lei n. 11.794/2008, do Decreto n. 6.899/2009 e demais disposições legais pertinentes ao escopo da Lei n. 11.794/2008. Sendo os procedimentos realizados por pessoas capacitadas. Após o período experimental, os camundongos foram pré- anestesiados com acepromazina (3 mg/kg), e anestesiados com uma mistura de cloridrato de cetamina (100 mg/kg) e cloridrato de xilazina (20 mg/kg) por via intraperitoneal, em dose suficiente para eliminar o reflexo corneal (REV. ASSOC. MED. BRAS. 2010). Após a ausência do reflexo corneal, administrou-se 2 mL/kg de cloreto de potássio e os camundongos foram eutanasiados por deslocamento cervical (Association American Veterinary Medical – AVMA, 2013; DAMY et al., 2010). Todos os procedimentos desta pesquisa do início até o momento da eutanásia foram realizados para evitar o sofrimento, reduzir o desconforto e dor dos animais.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O método de Análise de Variância (ANOVA) “One-way” foi aplicado na análise de dados paramétricos e não paramétricos, os quais foram obtidos a partir da realização do teste de normalidade de D’Agostino-Pearson. O teste estatístico de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunnett foi utilizado na análise de dados não paramétricos e Boferroni para os testes paramétricos, além da realização de múltiplas comparações. Os resultados foram expressos com a média $\pm$ SEM e foram avaliados estatisticamente usando o software Prism v.9.0 e SPSS 11.5. Sendo considerados significativos os dados, caso o nível de significância fosse menor do que $p < 0,05$.

A porcentagem de inibição nos testes de mecanismo foi determinada pela comparação entre as médias do grupo controle e experimental, calculadas conforme a equação descrita abaixo (OLORUKOOBA; ODOMA, 2019).

$$\text{Porcentagem de inibição} = \frac{(\text{Média do grupo controle}) - (\text{Média do grupo experimental})}{\text{Média do grupo controle}} \times 100$$

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO DA TOXIDADE AGUDA DO EEBWa.v E FAWa.v

A avaliação de toxidade do EEBWa.v e FAWa.v foi baseada segundo a OECD-OCDE, 423 (2001). Pode-se observar que a administração de EEBWa.v e FAWa.v na dose de 2.000 mg/kg não foi capaz de produzir qualquer sinal de toxicidade, como: alterações na pele, olhos e mucosas, alterações cardiorrespiratória, comportamental e motoras; e não houve mortes durante o período de 14 dias.

5.2 TRIAGEM COMPORTAMENTAL

5.2.1 Triagem Farmacológica Comportamental com EEBWa.v

A triagem farmacológica foi realizada segundo Almeida et al. (2006) para avaliar o possível efeito de um composto no Sistema Nervoso Central (SNC). Pode-se observar que o EEBWa.v (100 mg/kg) promoveu alterações comportamentais como sedação, a qual apresentou efeito presente (+) ao longo dos 30 minutos, analgesia, efeito presente (+) ao longo dos 60 minutos e resposta ao toque diminuída intenso (++) ao longo dos 240 minutos de experimento, cujas características encontram-se referentes a atividade depressora do Sistema Nervoso Central (Quadro 2). Para as demais alterações da triagem farmacológica comportamental o EEBWa.v (100 mg/kg) se mostrou sem efeito. **Quadro 2.** Triagem Farmacológica Comportamental do extrato bruto (100 mg/kg, i.p.) das partes aéreas da *W. viscosíssima*.

SNC (Depressora)	TEMPO (min)				
	Até 30	60	120	180	240
Sedação	+				
Analgesia	+	+			
Resposta ao toque diminuída	++	++	++	++	++

Quantificação dos efeitos: (0) sem efeito, (-) efeito diminuído, (+) efeito presente, (++) efeito intenso

5.2.2 Rota Rod com EEBWa.v e FAWa.v

No teste de Rota Rod nenhuma das doses do EEBWa.v e FAWa.v (50,100,200 mg/kg) foi capaz de reduzir significativamente o tempo de permanência dos animais na barra de rotação, quando comparado ao controle, assim não apresentando prejuízos como: ataxia, sedação e hiperexcitabilidade, considerados efeitos adversos (Figura 17). E pode-se observar que o diazepam apresentou tempo de permanência significativamente menor no tempo de 30 minutos quando comparado ao grupo controle, $p < 0,05$, e para o EEBWa.v (100 e 200 mg/kg) com $p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente.

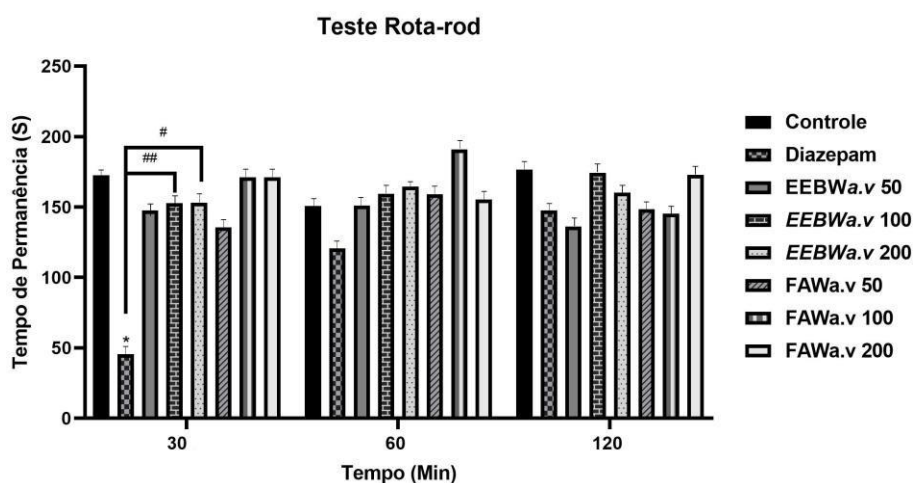


Figure 17. Efeito do tratamento com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (50, 100 e 200 mg / kg, i.p.), diazepam (4 mg / kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9% i.p.), controle, no teste de Rota rod. Cada coluna representa $\pm$ S.E.M. (n = 6) (One-way ANOVA - Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunnett) * $p < 0,05$ versus controle e # $p < 0,05$ e ## $p < 0,01$ versus Diazepam.

5.3 ESTUDO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA COM EEBWa.v E FAWa.v

5.3.1 Teste das contorções abdominais induzido por ácido acético

Todos os grupos tratados com a *W. viscosissima* e morfina tiveram menos contorções abdominais em comparação com o grupo não tratado. No entanto, pode-se observar na Figura 18 que os grupos tratados com EEBWa.v nas doses de 50 e 100 mg/kg diminuíram significativamente o número de contorções abdominais ($0,0 \pm 0,5$ e $0,0 \pm 0,54$, respectivamente) quando comparados com o grupo controle. O grupo FAWa.v na dose de 100 mg/kg revelou maior potencial ativo ($0,0 \pm 0,33$) quando

comparado ao grupo controle, bem como apresentou um menor número de contorções abdominais quando comparado ao grupo tratado com dose de 200 mg/kg do FAWa.v ($0,0 \pm 12,42$). No grupo da morfina (10 mg / kg, i.p.) não houve contorções ($0,0 \pm 0,0$) (Figura 18).

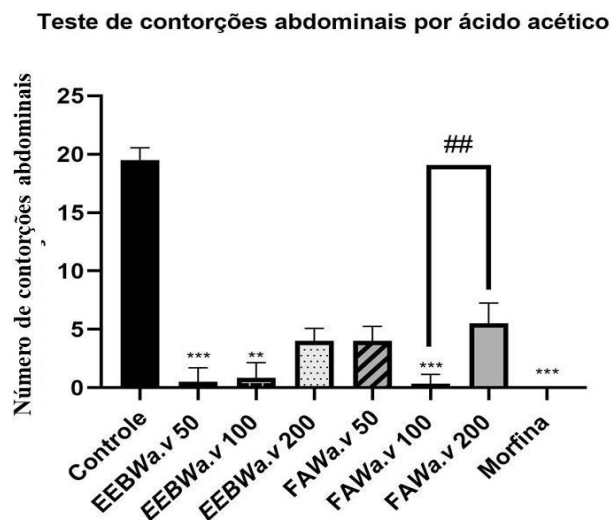


Figura 18. Efeito do tratamento com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (50, 100 e 200 mg / kg, i.p.); morfina (10 mg / kg, i.p.); solução de NaCl (0,9% i.p.), controle; no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Cada coluna representa $\pm$ S.E.M. (n = 6) (One-way ANOVA - Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunnett) * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001 versus controle e ## p < 0,01 versus FAWa.v 100.

5.3.2 Teste da Nocicepção Induzida por Formalina

O tratamento com EEBWa.v, nas doses de 50 e 200 mg/kg reduziu significativamente ($15,0 \pm 2,98$ e $15,3 \pm 3,8$ s, respectivamente), a quantidade de tempo que os animais passaram lambendo a pata traseira na fase neurogênica do teste comparado ao controle ($70,0 \pm 11,6$ s) (Figura 19A). Porém, na fase inflamatória do teste, apenas a dose de 100 mg / kg de EEBWa.v se mostrou estatisticamente relevante ($51,0 \pm 16,9$ s) na redução do tempo de lambida em relação ao grupo controle ($246,0 \pm 23,9$ s) (Figura 19B).

No tratamento com FAWa.v, apenas a dose de 100 mg/kg foi capaz de diminuir significativamente o tempo de lambida na fase inflamatória do teste ($41,0 \pm 14,0$ s) em relação ao grupo controle ($246,0 \pm 23,9$ s) (Fig. 19B). Essa mesma dose teve significância no número de lambidas de pata quando comparada a dose de 200 mg/kg de EEBWa.v. No grupo tratado com morfina (10 mg / kg, i.p.) a dor foi significativamente inibida em ambas as fases em comparação ao grupo controle ($0,0 \pm 0,0$ s) (Figura 19A e Figura 19B).

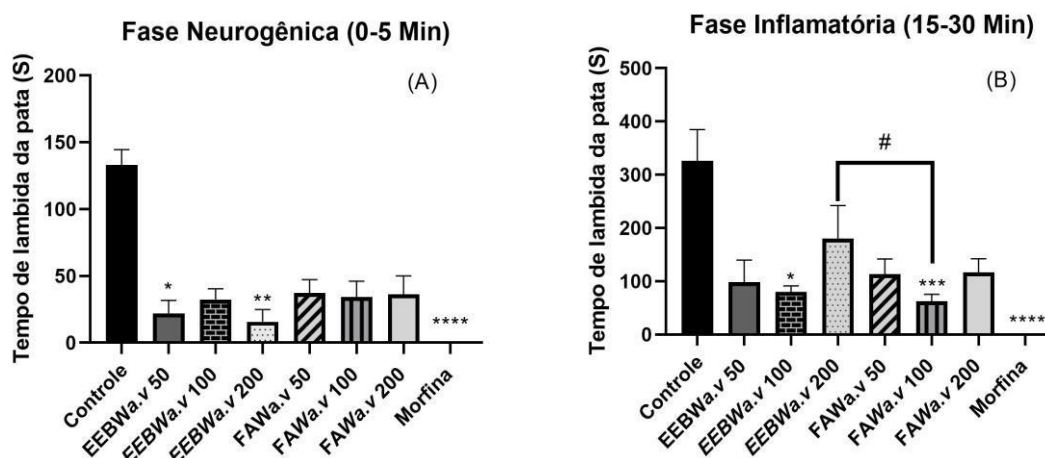


Figura 19. Efeito do tratamento com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (50, 100 e 200 mg / kg, i.p.); morfina (10 mg/kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9% i.p.), controle; no tempo de lambida da pata nas fases neurogênicas (0-5 min) e fases inflamatórias (15-30) do teste da formalina. Cada coluna representa $\pm$ S.E.M. (n = 6) (One way ANOVA - Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunnett) * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001 vs controle e # p < 0,05 versus FAWa.v.

EEBWa.v e FAWa.v na dose de 100 mg/kg mostraram-se significantes nos estudos quando comparados ao controle na fase inflamatória, assim seguiram preferencialmente para o teste de edema de pata induzida por prostaglandina e peritonite induzida por carragenina, cuja mesma avalia o controle da dor por ação periférica, e para os testes de possíveis mecanismos de ação antinociceptivo.

5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA COM EEBWa.v E FAWa.v

5.4.1 Teste de Edema de Pata Induzido por Prostaglandinas E₂

Os resultados do edema de pata induzido por prostaglandina E₂ demonstram que nos primeiros 15 minutos após a provocação com prostaglandina os grupos tratados com EEBWa.v na dose de 100 mg/kg ($4,45 \pm 0,36$ mm), FAWa.v na dose de 100 mg/kg ($2,6 \pm 0,50$ mm) e a indometacina (10 mg/kg) ($2,10 \pm 0,58$ mm) diminuíram o edema da pata em 6%, 45% e 55,6%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle ($4,73 \pm 0,51$ mm) (Figura 20A). O grupo salina ($0,48 \pm 0,09$ mm), grupo sem inflamação induzida, se mostrou significante quando comparado ao grupo controle ($4,73 \pm 0,51$ mm).

mm) e ao grupo tratado com o EEBWa.v na dose de 100 mg/kg ($4,45 \pm 0,36$), com $p < 0,01$ para ambos (Figura 20A). O grupo indometacina (10 mg/kg) se mostrou significativo quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$).

No segundo momento de observação, após 30 minutos da provocação com prostaglandina, os grupos tratados com EEBWa.v na dose de 100 mg/kg ($3,5 \pm 0,57$ mm), FAWa.v na dose de 100 mg/kg ($1,67 \pm 0,15$ mm) e a indometacina (10 mg/kg) ($2,63 \pm 0,43$ mm) diminuíram o edema da pata em 28,9%, 66% e 46,5%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle ($4,92 \pm 0,30$ mm), sendo significativa para o grupo FAWa.v ($p < 0,05$) (Figura 19B). O grupo salina ($1,11 \pm 0,25$ mm), grupo sem inflamação induzida, se mostrou significativo quando comparado ao grupo controle ($4,92 \pm 0,30$ mm) (Figura 20B). O grupo indometacina (10 mg/kg) se mostrou significativo quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$).

Os grupos tratados com EEBWa.v na dose de 100 mg/kg ($1,25 \pm 0,18$ mm), FAWa.v na dose de 100 mg/kg ($1,39 \pm 0,23$ mm) e a indometacina (10 mg/kg) ($0,9 \pm 0,14$ mm) diminuíram o edema da pata em 61,5%, 57,2% e 72,3%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle ($3,25 \pm 0,17$ mm), após 60 minutos da provocação com prostaglandina (Figura 20C), com relevância estatística para o grupo tratado com indometacina ($p < 0,05$) (Figura 20C). O grupo salina ($0,41 \pm 0,03$ mm), sem inflamação induzida, se mostrou significativo quando comparado ao grupo controle ($3,25 \pm 0,17$ mm) (Figura 20C).

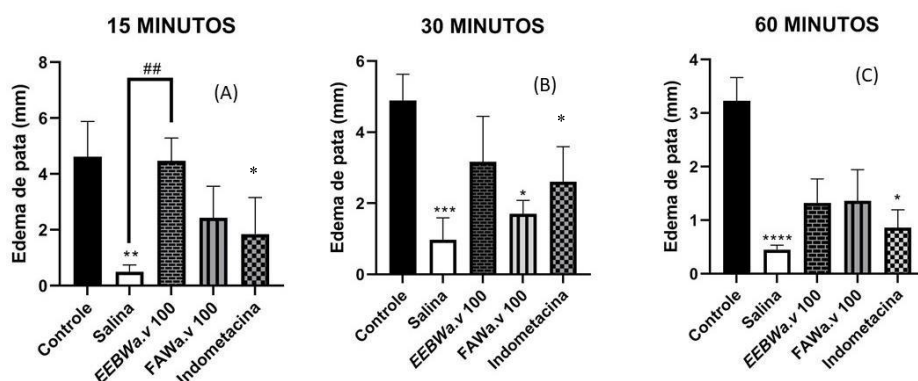


Figura 20. Atividade anti-inflamatória por edema de pata induzido por prostaglandina E_2 em animais tratados com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (100 mg/kg, i.p.), Indometacina (10 mg/kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9% i.p.), controle. O grupo Salina (animal sem prostaglandina e apenas com salina). Cada coluna representa $\pm$ S.E.M. (n = 6) (One way ANOVA - Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunnett) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$ versus controle e ## $p < 0,01$ versus salina.

5.4.2 Teste de Peritonite Induzida por Carragenina

Os resultados da inflamação peritoneal induzida por Carragenina mostraram que na dose de 100 mg/kg, EEBWa.v e FAWa.v foram capazes de inibir a migração de células para a cavidade peritoneal com $p < 0,05$ ($2,2 \pm 0,44$) e $p < 0,01$ ($2,0 \pm 0,5$), respectivamente, quando comparado ao grupo controle ($6,9 \pm 0,82$). Além disso, essa ação foi estatisticamente semelhante ao grupo tratado com dexametasona que foi utilizada como controle positivo e também foi capaz de promover redução da migração celular (Figura 21).

Peritonite induzido por carragenina

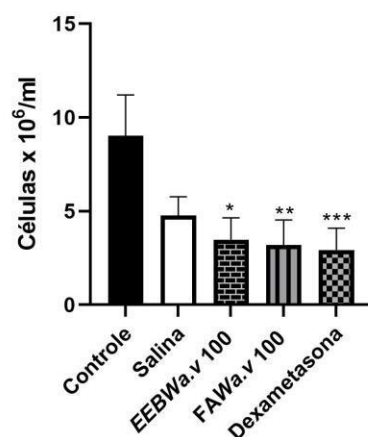


Figura 21. Atividade anti-inflamatória por migração celular em animais tratados com o EEBWa.v e a FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (100 mg/kg, i.p.), dexametasona (2 mg/kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9% i.p.), controle. O grupo Salina (animal sem carragenina e sem intervenção). Cada coluna representa $\pm$ S.E.M. (n = 6) (One way ANOVA - Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunnett) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ versus controle.

5.5 TESTES DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAOT) COM EEBWa.v E FAWa.v NO FLUIDO PERITONEAL

No teste da CAOT do fluido peritoneal, foi demonstrado que EEBWa.v na dose de 100 mg/kg apresentou atividade antioxidante superior em relação aos grupos controle e dexametasona ($p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente). Os valores da FAWa.v na dose de 100 mg/kg não foram estatisticamente maiores do que a dexametasona, conforme mostrado na Figura 22. Além disso, a ação antioxidante de EEBWa.v na dose de 100 mg/kg foi estatisticamente semelhante a FAWa.v na dose de 100 mg/kg (Figura 22).

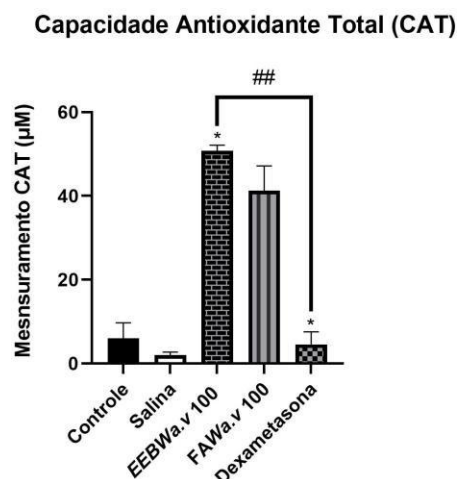


Figura 22. Capacidade antioxidante total (CAOT) no fluido peritoneal de camundongos saudáveis com inflamação induzida por carragenina tratados com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (100 mg / kg, i.p.), dexametasona (2 mg / kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9% i.p.), controle. O grupo da solução salina (animal sem carragenina e sem intervenção). Cada coluna representa $\pm$ S.E.M. (n = 6). Os resultados foram analisados por Boferroni. *p <0,05, versus controle e ## p <0,01 versus dexametasona.

5.6 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA POR MALONDIALDEÍDO – MDA COM EEBWa.v E FAWa.v NO FLUIDO PERITONIAL

A dexametasona inibiu o MDA, mas não foi superior ao grupo salina, porém foi similar ao grupo controle (Figura 23). Pode-se observar que os animais tratados com EEBWa.v e FAWa.v não foram capazes de inibir a peroxidação lipídica no fluido peritoneal, quando comparados ao grupo controle e ao grupo salina (Figura 23).

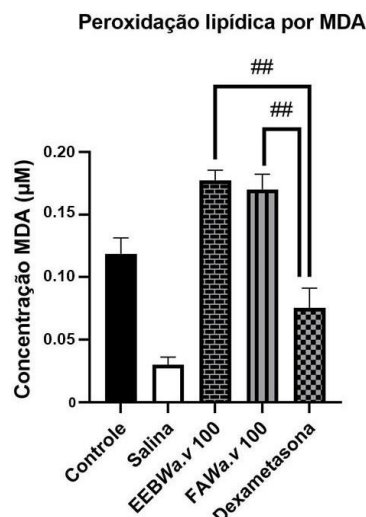


Figura 23. Peroxidação Lipídica por MDA no fluido peritoneal de camundongos saudáveis com inflamação induzida por carragenina tratados com EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (100 mg / kg, i.p.), dexametasona (2 mg / kg, i.p.) e solução de NaCl (0,9% i.p.), controle. O grupo da solução salina (animal sem carragenina e sem intervenção). Cada coluna representa $\pm$ S.E.M. (n = 6). Os resultados foram analisados por Boferroni. * p < 0,05, versus controle e ## p < 0,01 versus dexametasona.

5.7 AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS MECANISMOS DE AÇÃO ENVOLVIDOS NA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA COM EEBWa.v E FAWa.v

5.7.1 Participação do Sistema Adenosinérgico

Na tabela 2 pode-se observar que o pré-tratamento com cafeína (10 mg/kg, i.p.), tanto na fase neurogênica quanto na fase inflamatória, não foi capaz de reverter o efeito antinociceptivo do EEBWa.v e FAWa.v (100 mg/kg, i.p.), mas se mostrou significativamente menor o tempo de lambida quando comparado ao grupo controle na fase inflamatória. O grupo morfina apresentou redução significativa no tempo de lambida em ambas as fases ($0,0 \pm 0,0$ e $0,0 \pm 0,0$) e os grupos pré-tratados com cafeína apresentaram relevância significativa (p < 0,05) quando comprado ao controle (Tabela 2).

Tabela 2. Avaliação do mecanismo de ação pela participação do sistema adenosinérgico do EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima*.

Tratamento	Dose (mg/kg, i.p.)	Fase Neurogênica	% Inibição	Fase Inflamatória	% Inibição
Controle	0,9 % NaCl	63,2 ± 5,4 (s)	-	171,0 ± 10,2 (s)	-
Cafeína	10	54,7 ± 3,7 (s)	13,5	169,0 ± 16,0 (s)	1,2
EEBWa.v	100	56,0 ± 6,2 (s)	11,4	98,5 ± 9,1 (s)	42,4
FAWa.v	100	32,0 ± 4,8 (s)	49,4	73,0 ± 14,0 (s)	57,3
EEBWa.v + Cafeína	100; 10	49,5 ± 2,0 (s)	21,7	44,2 ± 4,2 (s)*	74,2
FAWa.v + Cafeína	100; 10	43,2 ± 0,61 (s)	31,6	30,0 ± 4,0 (s)*	82,5
Morfina	10	0,0 ± 0,0 (s)*	100	0,0 ± 0,0 (s)*	100

EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (100 mg / kg, i.p.), Cafeína (10 mg / kg, i.p.), morfina (10 mg / kg, i.p.) e controle (Tratado com solução de NaCl a 0,9%, i.p.) no tempo de lambida da pata na fase neurogênica (0-5 min) e fase inflamatória (15-30) do teste da formalina e considerando % como percentual de inibição da dor quando comparado ao grupo controle. Os resultados são representados por ± S.E.M. (n = 6) (One way, ANOVA- Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunnett) *p <0,05 versus o controle.

5.7.2 Participação do Sistema opioide

Na Tabela 3 pode-se observar que o pré-tratamento com naloxona (5 mg/kg, i.p.), tanto na fase neurogênica como na fase inflamatória do teste de nocicepção induzida por formalina, não foi capaz de reverter o efeito antinociceptivo do EEBWa.v (100 mg/kg, i.p.), mas apresentou-se significativa na redução do tempo de lambida da pata quando comparado ao grupo controle (p<0,001). Em contrapartida o pré-tratamento com naloxona nos animais tratados com a FAWa.v (100 mg/kg, i.p.) diminuiu o percentual de inibição da dor na fase neurogênica de 69,4 % para 22,2%, e na fase inflamatória de 67,8% para 5,4% (Tabela 3). Assim como pôde-se observar que a naloxona reverteu a ação antinociceptiva da morfina de 100% para 43%, fase neurogênica, e de 100% a 50,9%, fase inflamatória (Tabela 3). O grupo EEBWa.v + Naloxona (87%) apresentou percentual de inibição estatisticamente superior que o grupo FAWa.v + Naloxona, (5,4%) (Tabela 3). O grupo morfina (0,0 ± 0,0 e 0,0 ± 0,0) e FAWa.v (22,0 ± 1,4 e 63,0 ± 4,3) apresentaram redução significativa no tempo de lambida de pata no teste de formalina, em ambas as fases, quando comparado ao controle (72,0 ± 4,7 e 195,5 ± 5,9) (Tabela 3).

Tabela 3. Avaliação do mecanismo de ação pela participação do sistema opioide do EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima*.

Tratamento	Dose (mg/kg, i.p.)	Fase Neurogênica	% Inibição	Fase inflamatória	% Inibição
Controle	0,9 % NaCl	72,0 ± 4,7 (s)	-	195,5 ± 5,9 (s)	-
Naloxona	5	64,0 ± 4,3 (s)	11,1	133,5 ± 8,5 (s)	31,7
EEBWa.v	100	33,5 ± 3,3 (s)	53,5	85,0 ± 5,1 (s)	56,5
FAWa.v	100	22,0 ± 1,4 (s)*	69,4	63,0 ± 4,3 (s)*	67,8
EEBWa.v + Naloxona	100; 5	8,5 ± 3,7 (s)**	88,2	25,5 ± 6,13 (s)** ^a	87,0
FAWa.v + Naloxona	100; 5	56,0 ± 5,7 (s)	22,2	185 ± 7,0 (s)	5,4
Morfina + Naloxona	10;5	41 ± 5,4 (s)	43,0	96,0 ± 5,2 (s)	50,9
Morfina	10	0,0 ± 0,0 (s)****	100	0,0 ± 0,0 (s)****	100

EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (100 mg / kg, i.p.), Naloxona (5 mg/kg, i.p.), morfina (10 mg / kg, ip) e controle (Tratado com solução de NaCl a 0,9%, i.p.) no tempo de lambida da pata na fase neurogênica (0-5 min) e fase inflamatória (15-30) do teste da formalina e considerando % como percentual de inibição da dor quando comparado ao grupo controle. Os resultados são representados por ± S.E.M. (n = 6) (One way, ANOVA- Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunnett) *p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001 versus o controle, ^a p < 0,05 versus FAWa.v + Naloxona.

5.7.3 Participação dos Canais de K⁺ATP

Os resultados contidos na Tabela 4 são referentes aos dados obtidos do EEBWa.v e FAWa.v na investigação do mecanismo de ação com o uso da glibenclamida, bloqueador dos canais de K⁺ATP, durante a fase neurogênica e inflamatória do teste de nocicepção induzida por formalina. Os resultados demonstram que o pré-tratamento com glibenclamida (10 mg/kg, i.p.) reverteu parcialmente a ação antinociceptiva nos animais tratados com EEBWa.v e FAWa.v (100 mg/kg, i.p.) na fase neurogênica, sendo a redução do percentual de inibição da dor de 53,5% para 40,3% e de 69,4% para 38,9%, respectivamente (Tabela 4). Já na fase inflamatória o pré-tratamento com glibenclamida (10 mg/kg, i.p.) demonstrou uma redução de percentual de inibição de 56,5% para 7,9% e 67,8 para 19,4%, nos animais tratados com EEBWa.v e FAWa.v (100 mg/kg, i.p.), respectivamente, conforme demonstrado na Tabela 4. No que se refere ao tempo de lambida da pata traseira pode-se observar que os grupos tratados apenas com EEBWa.v e FAWa.v na dose 100 mg/kg e morfina (10 mg/kg, i.p.) apresentaram redução no tempo de lambida significativa quando comparado ao grupo controle (p <0,05, p <0,01 e p <0,001, respectivamente).

Tabela 4. Avaliação do mecanismo de ação pela participação dos Canais de K^+_{ATP} do EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima*.

Tratamento	Dose (mg/kg, i.p.)	Fase Neurogênica	% Inibição	Fase Inflamatória	% Inibição
Controle	0,9 % NaCl	72,0 ± 4,7 (s)	-	195,5 ± 5,9 (s)	-
Glibenclamida	10	32,0 ± 3,4 (s)***	55,6	120,0 ± 14,6 (s)	38,6
EEBWa.v	100	33,5 ± 3,3 (s)*	53,5	85,0 ± 5,1 (s)*	56,5
FAWa.v	100	22,0 ± 1,4 (s)**	69,4	63 ± 5,3 (s)**	67,8
EEBWa.v + glibenclamida	100; 10	43,0 ± 4,3 (s)	40,3	180,0 ± 4,3 (s)	7,9
FAWa.v + glibenclamida	100; 10	44,0 ± 3,8 (s)	38,9	157,5 ± 20,1 (s)	19,4
Morfina	10	0,0 ± 0,0 (s)***	100	0,0 ± 0,0 (s)****	100

EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas de *W. viscosissima* (100 mg / kg, i.p.), Glibenclamida (10 mg/kg, i.p.), morfina (10 mg / kg, i.p.) e controle (Tratado com solução de NaCl a 0,9%, i.p.) no tempo de lambida da pata na fase neurogênica (0-5 min) e fase inflamatória (15-30) do teste da formalina e considerando % como percentual de inibição da dor quando comparado ao grupo controle. Os resultados são representados por ± S.E.M. (n = 6) (One way, ANOVA- Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunnett) *p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001 versus o controle.

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e antioxidante das partes aéreas da *W. viscosissima*, assim como possíveis mecanismos de ação antinociceptivo.

No teste de triagem comportamental por Rota Rod, nenhuma das doses do EEBWa.v (50, 100 e 200 mg / kg) e FAWa.v (50, 100 e 200 mg / kg) foi capaz de reduzir o tempo de permanência dos animais na barra de rotação quando comparado ao controle. Esse resultado sugere que o material botânico não induz alterações motoras, ataxia, sedação e hiperexcitabilidade, os quais correspondem a efeitos adversos de um fármaco ou composto ativo (Figura 17). O presente estudo também revelou que o EEBWa.v e a FAWa.v na dose de 2000 mg/kg não promoveu toxicidade aguda (OECD-OCDE, 2001). Dado este relevante e pioneiro, visto que não há citação literária de estudos de toxicidade com *W. viscosissima*.

O teste de contorções abdominais com ácido acético é descrito na literatura como modelo clássico de nocicepção para substâncias com propriedades analgésicas que atuam de forma central ou periféricamente (BORGES et al., 2013). O ácido acético provoca uma irritação no peritônio, induzindo o animal a contorções abdominais e estiramento da pata traseira (COLLIER et al., 1968).

Assim a avaliação antinociceptiva, usando o teste de contorções abdominais induzido por ácido acético, mostrou uma redução significativa no número das contorções abdominais nos animais tratados, tanto com o EEBWa.v nas doses de 50 e 100 mg/Kg, como nos tratados com a FAWa.v na dose de 100 mg/kg, quando comparados ao grupo controle (Figura 18). Resultados semelhantes foram observados em outros estudos *in vivo* usando o extrato bruto da *W. indica* L. nas doses 100, 200 e 300 mg/kg (YOUGBARE-ZIEBROU et al., 2016) e *W. americana* nas doses 100 e 200 mg/kg (OWEMIDU ET AL., 2018), que mostrou uma redução significativa no número de contorções abdominais no teste de ácido acético.

A FAWa.v na dose de 100 mg/kg teve melhor desempenho, menor número de contorções abdominais, do que a dose de 200 mg/kg da FAWa.v. (Figura 18) sugerindo que a atividade antinociceptiva não tem resposta de forma dose-dependente, ou seja, a intensidade da resposta da FAWa.v não é proporcional à dose administrada, ou podendo sugerir através da curva dose-resposta o efeito platô na dose de 100 mg/kg. A redução dessas contorções abdominais foi observada em animais tratados com morfina, que se

caracteriza como um alcalóide, substância bioativa padrão na inibição da dor (SVERRISDOTTIR et al., 2015). Essa composição da morfina dá suporte à atividade antinociceptiva da FAWa.v, que é uma mistura de alcaloides, dentre eles a waltheriona A e waltheriona B (FERREIRA et al., 2019).

Em geral, o ácido acético causa dor ao liberar diversas substâncias endógenas como serotonina, histamina, bradicininas, citocinas, prostaglandinas (PGs) e substância P. Esses mediadores químicos estimulam neurônios nociceptivos periféricos que aumentam a permeabilidade vascular sensibilizando localmente receptores peritoneais que são responsáveis pela ativação da resposta de contorção (BENTLEY, 1983; KHAN et al, 2013; BORGES et al., 2013; YOUNGBARE-ZIEBROU, 2016). O resultado obtido nesse estudo indica que a *W. viscosissima* tanto pode impedir a liberação de mediadores inflamatórios, através da ação periférica, quanto apresentar um efeito antinociceptivo central, sendo assim, procedeu-se com métodos mais específicos para melhor caracterização deste efeito, através do teste de formalina (SHIBATA et al., 1989; TIJOLSEN et al., 1992).

O teste de formalina corresponde a um modelo químico de nocicepção que fornece uma resposta com maior especificidade para avaliação da inibição da dor, cujo objetivo é obter critérios para avaliação da atividade nociceptiva, através da fase neurogênica (0-5 min), a qual ocorre de forma imediata, através de resposta central decorrente a estimulação química direta dos nociceptores, predominantemente aferentes, e liberação de aminoácidos excitatórios, como ocorre com agonistas opioides, por exemplo, a morfina (TIJOLSEN et al., 1992), onde a inibição dessa fase é indicativo de potencial bioativo analgésico que atuam em ação central (HUNSKAAR; HOLE, 1987). Após esta fase inicia-se o período de interface (5-15min) que se caracteriza pelo mecanismo endógeno de supressão da dor (HENRY et al., 1999; GAUMOND; SPOONER; MARCHAND, 2007). A fase inflamatória (15-30 min) promove a liberação de mediadores inflamatórios como a serotonina, histamina, bradicinina, citocinas e prostaglandinas (PARADA et al., 2001).

Foi verificado que o tratamento com o EEBWa.v, nas doses de 50 e 200 mg/kg reduziu significativamente a quantidade do tempo que os animais passaram lambendo a pata traseira na fase neurogênica do teste em comparação ao controle (Figura 19A), revelando resposta central para supressão da dor. Porém, na fase inflamatória do teste, apenas a dose de 100 mg/kg do EEBWa.v se mostrou relevante na diminuição do tempo de lambida em comparação ao grupo controle (Figura 19B). Esses resultados podem ser

comparados com outros estudos utilizando o extrato bruto da *W. americana* nas doses de 100 e 200 mg/kg, que elucidou a supressão da dor tanto na fase neurogênica quanto na inflamatória (OWEMIDU et al., 2018). A FAWa.v na dose de 100 mg/kg foi capaz de diminuir significativamente o tempo de lambida na fase inflamatória do teste em relação ao grupo controle (Figura 19B), revelando ação periférica no controle da dor nesta dose. É muito importante ressaltar que uma dose de 100 mg/kg da fração foi superior a uma dose de 200 mg / kg EEBWa.v. (Figura 19B).

O potencial anti-inflamatório do EEBWa.v e FAWa.v na dose de 100 mg/kg mostrou-se significativo no estudo quando comparado ao controle, na fase inflamatória no teste de formalina (Figura 19B). Assim procedeu-se com esta dose para os estudos específicos de inflamação e mecanismo, visto que correspondeu a dose que melhor revelou bioatividade ao longo dos estudos.

Existe uma relação estreita entre a dor e inflamação, normalmente, quando ocorre dano tecidual, assim sendo classificada como dor inflamatória (nociceptiva) (RAJA et al., 2020). A inflamação aguda é uma reação da microcirculação, caracterizada pela produção exacerbada de prostaglandinas, decorrente ao aumento da expressão de COX-2, enzima responsável pela produção da mesma. Além disso, a inflamação aguda é marcada pelo envolvimento da imunidade inata, primeira linha de defesa do organismo, com participação de células mieloides como neutrófilos e basófilos, os quais são importantes para proporcionar a retomada da homeostase (ARULSELVAN et al., 2016; YOUNGBARE-ZIEBROU et al., 2016). Diante do supracitado, escolheu-se para avaliação da atividade anti-inflamatória o modelo de pata induzido por prostaglandina E₂ e peritonite induzido por carragenina.

No teste de edema de pata induzido por prostaglandina E₂, que corresponde a um mediador inflamatório lipídico sintetizado a partir do ácido araquidônico, pela ação da enzima COX-2 (PARADA et al., 2001; YOUNGBARE-ZIEBROU et al., 2016), pode-se observar que o EEBWa.v e a FAWa.v diminuíram a formação do referido edema de pata induzida por PGE₂, em 6% e 45%, 28,9% e 66%, 61,5% e 57,2%, respectivamente, durante todo período de observação (15, 30 e 60 min, respectivamente) quando comparado ao controle. Este efeito na diminuição do edema de pata também pode ser observado nos animais tratados com indometacina, fármaco padrão, de 55,6%, 46,5% e 72,3% ao longo do período de observação (15, 30 e 60 min, respectivamente), quando comparado ao controle (Figura 20A, 20B, 20C).

A indometacina corresponde a um anti-inflamatório não-esteróide, cujo mecanismo de ação atua no efeito inibitório sobre a síntese de prostaglandinas (ALVÁN et al, 1975). Assim sugere-se que a *W. viscosissima* pode impedir a liberação de mediadores endógenos da inflamação, como PGE2, responsáveis pela formação de edema, possivelmente pela via inflamatória, cujo ácido araquidônico é catabolizado pela enzima ciclooxigenase (COX-2). Bem como o presente material botânico pode atuar impedindo a degranulação de mastócitos, que é responsável pela liberação de histamina, envolvido na formação do edema (YOUGBARE-ZIEBROU et al., 2016; SOUSA- NETO et al, 2018).

O teste de peritonite induzida por carragenina, o qual corresponde a um polissacarídeo sulfatado que induz a inflamação, mede a atividade anti-inflamatória a partir da migração celular a nível peritoneal, por meio da ação periférica (HALL et al., 1998; SILVA et al., 2015; BARTH et al, 2016). Ambos EEBWa.v e FAWa.v foram capazes de diminuir a migração celular significativamente na inflamação aguda, quando comparados ao grupo controle (Figura 21). O mesmo potencial de diminuição da atividade migratória foi elucidado para o grupo padrão dexametasona, medicamento esteroide clássico com ação anti-inflamatória, quando comparado ao grupo controle (Figura 21). EEBWa.v (100 m/kg) e FAWa.v (100 mg/kg) foram estatisticamente iguais à dexametasona permitindo sugerir que a *W. viscosissima* pode controlar a dor pela ação periférica (Figura 21), mas com a vantagem de apresentar atividade antioxidante (Figura 22). Esse resultado anti-inflamatório também foi relatado nos testes *in vivo* com extrato das espécies *W. indica* (AVOSEH et al., 2019) e *W. americana* (OWEMIDU et al., 2018).

As espécies reativas de oxigênio (ROS) estão envolvidas em vários níveis do processo inflamatório (YOUGBARE-ZIEBROU et al., 2016). Estudos *in vitro* mostraram que a inflamação induzida por carragenina ocorre através da ativação do receptor Toll like-4 (TLR4) e produção de ROS (BHATTACHARYYA et al., 2008). Neste estudo, houve aumento das ROS nos grupos que receberam carragenina quando comparados ao grupo solução salina que não recebeu o estímulo inflamatório (Figura 22). As ROS participam do aumento da peroxidação lipídica, que é relatada como um fator complicador do processo inflamatório (UZKESER et al., 2012). No entanto, EEBWa.v e FAWa.v não foram capazes de inibir a peroxidação lipídica (Figura 23). Entretanto, estudos *in vitro* realizados por Youghbare-Ziebrou et al. (2016) usando extrato aquoso de *W. indica* (100 mg/kg) inibiu o efeito da peroxidação lipídica em

homogeneizado de fígado de rato em 74% (YOUGBARE-ZIEBROU et al., 2016). Comparando os dois estudos, o método de extração (álcool e água, respectivamente) foi diferente e pode afetar o resultado ao inibir a peroxidação lipídica.

Poucos estudos com atividade antioxidante utilizando partes aéreas da *W. viscosissima* foram realizados e publicados. Portanto, o estudo prosseguiu para determinar a Capacidade Antioxidante Total (CAOT) do EEBWa.v e FAWa.v das partes aéreas da *W. viscosissima* do fluido peritoneal em animais saudáveis submetidos à inflamação induzida por carragenina. O EEBWa.v teve atividade antioxidante superior aos outros grupos (Figura 22). Estudos preliminares *in vitro* elucidaram a ação antioxidante do extrato etanólico bruto da *W. viscosissima*, devido à presença de fitoquímicos como os flavonóides, que são metabólitos secundários, oriundos da via do acetato e do chiquimato (FERREIRA et al., 2019), que têm potencial ativo para sequestrar ROS, as quais promovem gatilho para inflamação (BARTH et al., 2016; Munshi et al., 2019). Outro estudo *in vitro* com o extrato aquoso de *W. indica* (100 mg/kg) confirma o potencial antioxidante desse gênero (YOUGBARE-ZIEBROU et al., 2016).

A FAWa.v. não teve a mesma capacidade antioxidante que o EEBWa.v (Figura 22). Este fato pode ser justificado pelo processo de purificação do extrato bruto etanólico, que possivelmente excluiu algumas substâncias ativas, como flavonóides e taninos que limitaram o efeito antioxidante de FAWa.v., que é uma mistura de alcalóides, dentre eles a waltheriona A e waltheriona B (FERREIRA et al., 2019; SARNTHIMA, KHAMMUANG, 2012), além do possível sinergismo molecular presente no extrato bruto etanólico, o que pode aumentar essa atividade.

Quanto a investigação do mecanismo de ação da atividade antinociceptiva das partes aéreas da *W. viscosissima* pode-se observar que o pré-tratamento com cafeína (10 mg/kg, i.p.), antagonista não-seletivo de receptores adenosina segundo Esser; Sawynok (2000), tanto na fase neurogênica como na fase inflamatória, não foi capaz de reverter o efeito antinociceptivo do EEBWa.v e FAWa.v (100 mg/kg, i.p.) (Tabela 2). Em contra partida o pré-tratamento com naloxona (5 mg/kg, i.p.), um antagonista opioide não-seletivo segundo Jin et al. (2010), foi capaz de reverter a ação antinociceptiva da FAWa.v (100 mg/kg, i.p.), tanto na fase neurogênica, de 69,4% para 22,2%, como na fase inflamatória, de 67,8% para 5,4%, assim sugerindo possível mecanismo de ação pela participação do sistema opioide (Tabela 3).

Este dado é similar aos achados pelo pesquisador Owemidu et. al. (2018), que estudou a *W. americana*, cuja mesma apresentou diminuição na atividade antinociceptiva, quando pré-tratada com naloxona, assim sugerindo a participação deste gênero nos receptores opioides. Este fato pode ser justificado pela presença dos alcaloides tanto na *W. americana* como *W. viscosíssima* (mistura de alcaloides, dentre eles a waltheriona A e waltheriona B), assim apresentando possivelmente o mesmo mecanismo de ação da morfina, que corresponde a um alcaloide, com ação nos receptores opioides (OWEMIDU et. al., 2018; FERREIRA et al., 2019; SHARPE et al, 2020).

Outro mecanismo de ação antinociceptivo avaliado foi o da participação dos canais de potássio, onde foi utilizado a glibenclamida pertencente ao grupo farmacológico da sulfoniluréia, um bloqueador específico de canais de K^+ sensível a ATP amplamente utilizado (LOPES et al., 2012; ISLAM, SHAJIB, AHMED, 2016). Sabe-se que a abertura dos canais de K^+ produz analgesia, que consequentemente reduz a sensibilidade neuronal e inibi a liberação de vários neurotransmissores na medula espinhal envolvidos no estímulo da dor (OLORUKOOBA; ODOMA, 2019).

Perante o supracitado o presente estudo com EEBWa.v e FAWa.v (100 mg/kg, i.p.), com animais pré-tratados com glibenclamida, demonstrou redução na atividade de inibição da dor de 53,5% para 40,3% e de 69,4% para 38,9%, respectivamente, na fase neurogênica, e de 56,5% para 7,9% e 67,8 para 19,4%, respectivamente, na fase inflamatória no teste de nocicepção induzida por formalina (Tabela 4). Portanto, o resultado indica uma possível ação antinociceptiva relacionada ao efluxo do íon de K^+ , a partir da abertura do canal de K^+ sensível a ATP (ISLAM, SHAJIB, AHMED, 2016; OOLORUKOOBA; ODOMA, 2019). Estes achados diferem do estudo *in vivo* realizado por Owemidu et. al. (2018) com o extrato da *W. americana*, a qual não foi capaz de reverter sua ação antinociceptiva na presença da glibenclamida.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

O presente estudo contribuiu para a elucidação de atividades bioativas como antinociceptiva, anti-inflamatória e antioxidante de *W. viscosissima*, as quais são limitadas na literatura. Estes achados permitem-nos confirmar cientificamente os conhecimentos já previstos na medicina popular, descrito na etnofarmacologia, quanto à sua ação no controle da dor e inflamação. Portanto, a *W. viscosissima* pode ser uma nova alternativa terapêutica para o controle da dor a partir de produtos naturais, sendo possível candidato a um fitoterápico promissor, bem como desenvolvimento de novos fármacos. Além disso mostrou-se seguro pelo teste de toxicidade aguda, uma vez que não foram apresentados mortalidade e sinais visíveis de toxicidade quando ministrado uma dose de 2000 mg/kg do extrato e fração, assim como não promoveu alteração motora, em modelos animais, e apresentou potencial antioxidante, dando-lhe um diferencial perante a terapia convencional. Assim como, revelou possível atividade antinociceptiva pelo mecanismo de ação com a participação dos receptores opioides e canais de K⁺ sensíveis a ATP.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

AGRA, M.F. **Plantas da medicina popular dos Cariris Velhos, Paraíba**. João Pessoa: Editora União, 1996.

AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.

ARULSELVAN, Palanisamy et al. Role of antioxidants and natural products in inflammation. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016.

ALMEIDA, R. N; OLIVEIRA, T.M.L. Triagem Farmacológica Comportamental. In: ALMEIDA, R.N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**, 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koong, 2006. cap. 11, p. 131-137.

AHMED, Z.; KAZMI, S. N. H.; MALIK, A. Phytochemical Investigation of *Abutilon pakistanicum*. **Fitoterapia**, v.62, n. 4, p. 349-352, 1991.

AHMED, Z., KAZMI, S.N.H., WALIK, A. Phytochemical investigation of *Abutilon pakistanicum*. **Journal of Natural Products**, 53, 1342, 1990.

ALAM, M.; JOY, S.; USMAN ALI, S. Screening of *Sida cordifolia* Linn. *Sida rhomboidea* Linn, and *Triumfetta rotundifolia* Lam. for anti-inflammatory and antipyretic activities. **Indian Drugs**, v. 28, n. 9, p.397-400, 1991.

ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; AGRA, M. F.; ALMEIDA, E. R.; MAJETICH, G.; BHATTACHAYYA, J. Analgesic effect of Dioclenol and Dioflorin isolated from *Dioclea grandiflora*. **Journal of Pharmaceutical Biology**, v. 38, p. 1-5, 2000.

AMARAL, F. M. M.; RIBEIRO, M. N. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; REIS, A. S.; NASCIMENTO, F. R. F.; MACEDO, R. O. Plants and chemical constituents with giardicidal activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16 (Supl.), p. 696-720, 2006.

AMARAL, J. F.; SILVA, M. I. G.; NETO, M. R. A.; NETO, P. F. T.; MOURA, B. A.; MELO, C. T. V.; ARAÚJO, F. L. O.; DE SOUSA, D. P.; VASCONCELOS, P. F.; VASCONCELOS, S. M.; SOUSA, F. C. F.; Antinociceptive Effect of the Monoterpene R-(+)- Limonene in Mice. **Biological e Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, p.1217-1220, 2007.

ARRAU, S.; DELPORTE, C.; CARTAGENA, C.; RODRIGUEZ-DIAZ, M.; GONZALEZ, P.; SILVA, X.; CASSELS, B. K.; MIRANDA, H. F. Antinociceptive activity of *Quillaja saponaria* Mol. Sapoin extract, quillaic acid and derivatives in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 164-167, 2011.

ARAWWAWLA, L. D. A. M.; ARAMBEWELA, L. S. R.; RATNASOORIYA, W. D. *Alpinia calcarata* Roscoe: A potent antiinflammatory agent. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 889-892, 2011.

ALVÁN, Gunnar et al. Pharmacokinetics of indomethacin. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 18, n. 3, p. 364-373, 1975.

BATISTA, J. S.; ALMEIDA, R. N.; BHATTACHARYYA, J. Analgesic effect of *Dioclea grandiflora* constituents in rodents. **Journal of Etnopharmacology**, v. 45, p. 207-210, 1995.

BASIRU, Afisu et al. Adverse reproductive effects of ethanolic root extract of *Waltheria indica* in male Wistar rats. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 16, n. 4, 2019.

BASBAUM, Allan I. et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267-284, 2009.

BARROSO, G. M., PEIXOTO, A. L., ICHASO, C. L., COSTA, C. G., GUIMARÃES, E. F. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. São Paulo: Edusp. v.1. 255 p. 1977.

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

BILLETER, M.; MEIER, B.; STICHER, O. 8-hydroxiflavonoid glucuronides from *Malva sylvestris*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 3, p. 987-990, 1991.

BONKANKA, C. X.; SÁNCHEZ-MATEO, C. D.; RABANAL, R. M. Antinociceptive activity of *Hypericum grandifolium* Choisy in mice. **J Nat Med** .v. 65, p. 122–128, 2011.

BOVINI, M. G.; OKANO, R. M. C.; VIEIRA, M.F. Malvaceae A. Juss. No Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia** 52(81): 17-47. 2001.

BRENNAN, F.; CARR, D. B.; COUSINS, M. Pain management: a fundamental human right. **Anesthesia & Analgesia**, v. 105, p.205-21, 2007.

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. **Phytother. Res.**, 14, 1, 2000.

CAMPOS, A. R.; ALBUQUERQUE, F. A. A.; RAO, V. S. N.; MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C. Investigations on the antinociceptive activity of crude extracts from *Croton cajucara* leaves in mice. **Fitoterapia**, 73, p. 116, 2003.

CÂMARA, C. C. **Estudo dos efeitos antinociceptivos, comportamentais e regenerativos do tratamento com gabapetina em modelo experimental e de dor neuropática**. 2009.220f. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Farmacologia/UFC, Fortaleza, Ceará, 2009.

CHAPMAN, C. R.; GAVRIN, J. Suffering: the contributions of persistent pain. **The Lancet**, v. 353, p. 2233-2237, 1999.

CHAVES, O. S., GOMES, R. A., TOMAZ, A. C. A., FERNANDES, M. G., MENDES JUNIOR, L. das G., AGRA, M. F., BRAGA, V. A., SOUZA, M. F. V. secondary metabolites from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the vasorelaxant activity of cryptolepinone. **Molecules**, v. 18, p. 2769-2777, 2013.

CHEN, Zhichun; ZHONG, Chunjiu. Oxidative stress in Alzheimer's disease. **Neuroscience bulletin**, v. 30, n. 2, p. 271-281, 2014.

COSTA, D. A. **Flavonas isoladas e identificadas das partes aéreas de *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae)**. 2002. 104 p. Dissertação (Laboratório de Tecnologia Farmacêutica), Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2002.

COSTA, D. A.; MATIAS, W. N.; LIMA, I. O.; XAVIER, A. L.; COSTA, V. B. M.; DINIZ, M. F. F. M.; AGRA, M. F.; BATISTA, L. M.; SOUZA, M. F. V. First secondary metabolites from *Herissantia crispa* (L.) Brizicky and the toxicity activity against *Artemia salina* Leach. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 48-50, 2009.

CORRÊA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Ministério da Agricultura**, Rio de Janeiro, v. 2, p. 541, 1931.

CORRÊA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Ministério da Agricultura**, Rio de Janeiro, 1984.

COUSSENS, Lisa M.; WERB, Zena. Inflammation and cancer. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 860-867, 2002.

CARDOSO, M. G. DE M. **Classificação, fisiopatologia e avaliação da dor**. [s.l.: s.n.]. CHEN, J. (STEVEN); SEHDEV, J. S. **Physiology, Pain**. [s.l.] StatPearls Publishing, 2019.

CRETTON, S. et al. Antifungal Quinoline Alkaloids from *Waltheria indica*. **J. Nat. Prod.**, v. 79, n. 2, p. 300-307, 2016.

DE SOUZA, M. M.; PEREIRA, 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.

DO AMARAL, Jeferson Falcao et al. Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 7, p. 1217-1220, 2007.

ELLIGER, C. A. Sexangularetin 3-glucoside-7-rhamnoside from *Gossypium hirsutum*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 5, p.1199-1201, 1984.

ESSER, M. J.; SAWYNOK, J.; Caffeine blockade of thermal antihyperalgesic effect of acute amitriptyline in a rat model of neuropathic pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 399, p. 131-139, 2000.

FAUSTINO, T. T.; ALMEIDA, R. B.; ANDREATINI, R. Plantas medicinais no tratamento do transtorno de ansiedade generalizada: uma revisão dos estudos clínicos controlados. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v.32, n.4, p. 429-436, 2010.

FERREIRA, M. D. L. et al. Phytochemical study of *Waltheria viscosissima* and evaluation of its larvicidal activity against *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 582-590, 2019.

FRANKLIN, K.B.J.; PAXINOS, G. The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates, 3rd Ed, **Elsevier**, San Diego, Academic Press, San Diego, 2007.

FRANZOTTI, E. M.; SANTOS, C. V. F.; RODRIGUES, H. M. S. L.; MOURÃO, R. H. V.; ANDRADE, M. R.; ANTONIOLLI, A. R.; Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 273-278, 2000.

FRYXELL, P. A. The American genera of Malvaceae II. **Britonia**, v. 49, p. 204-269, 1997.

GAUMOND, I.; SPOONER, M. F.; MARCHAND, S. Sex differences in opioid-mediated pain inhibitory mechanisms during the interphase in the formalin test. **Neuroscience**, v. 146, p. 366-374, 2007.

GOMES, A. Y., SOUZA, M. F. V., CORTES, S. F., LEMOS, V. S. Mechanism involved in the spasmolytic effect of a mixture of two triterpenes cycloartenol and cycloeucalenol isolated from *Herissantia tiubae* in the guinea-pig ileum. **Planta Medica**, vol. 71, p. 1025-1029, 2005.

GRINGS, M.; BOLDRINI, I. I. *Sphaeralcea bonariensis* (Cav.) Griseb. (Malvaceae): Nova ocorrência para o Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 3, p. 382, 2011.

GRESSLER, V. et al. Quinolone alkaloids from *Waltheria douradinha*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 4, p. 994-999, 2008.

GUNATILAKA, A.A.L. SOTHEESWARAN, S., BALASUBRAMAIAM., CHANDRASEKA, A.I., SRIYANI, H.T.B. Studies on medicinal plants of Sri Lanka III. Pharmacologically important alkaloids of some *Sida* species. **Planta Medica** 39, p66-72, 1980.

HENRY, J. L.; YASHAPAL, K.; PITCHER, M. G.; CODERRE, T. J.; Physiological evidence that the “interphase” in the formalin test is active inhibition. **Pain**, v. 82, p.57-63, 1999.

HEYWOOD, V.H. **Flowering plants of world**. B. T. London: Batsford Ltd. 1993.

HUSSAIN, S. Perwez; HOFSETH, Lorne J.; HARRIS, Curtis C. Radical causes of cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 4, p. 276-285, 2003.

HUSSAIN, Tarique et al. Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us?. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, p. 103-104, 1987.

KEALY, John et al. Acute inflammation alters brain energy metabolism in mice and humans: role in suppressed spontaneous activity, impaired cognition, and delirium. **Journal of Neuroscience**, v. 40, n. 29, p. 5681-5696, 2020.

JANG, Ja Yeong et al. Control of root-knot nematodes using *Waltheria indica* producing 4-quinolone alkaloids. **Pest management science**, v. 75, n. 8, p. 2264-2270, 2019.

JIN, W. Y.; LUI, Z.; LUI, D.; YU, L. C.; Antinociceptive effects of galanin in the central nucleus of amygdala of rats, an involvement of opioid receptors. **Brain Research**, v. 1320, p. 16-21, 2010.

JULIUS, David; BASBAUM, Allan I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 203-210, 2001.

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

LAPA, A.J. et al. **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais**. 5.ed. São Paulo: Setor de Produtos Naturais, Departamento de Farmacologia, UNIFESP/EPM, 2007. 119 p.

LACZKO, Rozalia et al. Anti-inflammatory activities of *Waltheria indica* extracts by modulating expression of IL-1B, TNF- α , TNFRII and NF- κ B in human macrophages. **Inflammopharmacology**, v. 28, n. 2, p. 525-540, 2020.

Ministério da Educação. **métodos de avaliação laboratorial da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória de produtos naturais**. Boletim Técnico - n.º 97 - p. 1-35 Lavras/MG, 2014.

LIMA J. B.; CONCEIÇÃO A DE SOUSA. Malvoideae Burnett (Malvaceae) in the Environmental Protection Area Serra Branca, Raso da Catarina, Jeremoabo, Bahia, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 16, n. 4, 2016.

LOPES, L. S.; MARQUES, R. B.; PEREIRA, S. S.; AYRES, M. C.; CHAVES, M. H.; CAVALHEIRO, A. J.; VIEIRA JÚNIOR, G. M.; ALMEIDA, F. R. C.; Antinociceptive effect on mice of the hydroalcoholic fraction and (-) epicatechin obtained from *Combretum leprosum* Mart & Eich. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 43, p. 11892-1892, 2010.

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 & Eric in rodents. **Journal of Biomedical Science**, v. 19, p. 68-74, 2012.

LUO, X.D., BASILE, M.J., KENNELLY, E.J. Polyphenolic antioxidants from the fruits of *Chrysophyllum cainito* L. (star apple). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 1379-1382, 2002.

MARCHAND, Serge. Mechanisms challenges of the pain phenomenon. **Frontiers in Pain Research**, p. 2, 2021

MONTEILLIER, Aymeric et al. Cancer chemopreventive activity of compounds isolated from *Waltheria indica*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 203, p. 214-225, 2017.

MOREIRA, H. J. DA COSTA; BRAGANÇA, H. B. N. **Manual de identificação de plantas infestantes hortifrúti**. Campinas – SP. 2011

MUNDO, Jorge et al. Neuropharmacological and neuroprotective activities of some metabolites produced by cell suspension culture of *Waltheria americana* Linn. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, p. 129-139, 2017.

NONATO, F. R.; NOGUEIRA, T. M.; BARROS, T. A.; LUCCHESI, A. M., OLIVEIRA, C. E.; SANTOS, R. R.; SOARES, M. B. ; VILLARREAL, C.F. Antinociceptive and antiinflammatory activities of *Adiantum latifolium* Lam.: evidence for a role of IL-1 β inhibition. **Journal Ethnopharmacology**, v. 136, p.518-24, 2011.

OLORUKOOBA, A. B.; ODOMA, S. Elucidation of the possible mechanism of analgesic action of methanol stem bark extract of *Uapaca togoensis* pax in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 245, p. 112156, 2019.

OCANA, M.; CENDÁN, C. M.; COBOS, E. J.; ENTRENA, J. M.; BAEYENS, J. M. Potassium channels and pain: present realities and future opportunities. **European Journal of Pharmacology**, v. 500, p.203-219, 2004.

OLIVEIRA, A. M. F., PINHEIRO, L. S., PEREIRA, C. K. S., MATIAS, W. M., GOMES, R. A., CHAVES, O. S., SOUZA, M. F. V., ALMEIDA, R. M., ASSIS, T. S., Antioxidant Activity of Some Malvaceae Family Species, **Antioxidants**, v. 1, p. 33-43, 2012.

OLIVEIRA, F. Q.; GOBIRA, B.; GUIMARÃES, C.; BATISTA, J.; BARRETO, M.; SOUZA, M. Espécies vegetais indicadas na odontologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 466-476, 2007.

OLIVEIRA, J. R. **Avaliação do efeito antinociceptivo do extrato hidroalcoólico de folhas de *Cissampelos sympodialis***. 2007. Dissertação (Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

OLIVEIRA, F. S.; SOUSA, D. P.; ALMEIDA, R. N. Antinociceptive effect of hydroxydihydrocarvone. **Biological e Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 4, p.588-591, 2008.

OLIVEIRA, F. S. **Estudo do efeito psicofarmacológico de hidroxicarvona em camundongos**. 2006. 94f. Dissertação (Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2006.

OLORUKOOBA, A. B.; ODOMA, S. Elucidation of the possible mechanism of analgesic action of methanol stem bark extract of *Uapaca togoensis* pax in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 245, p. 112156, 2019.

ORLANDI, L.; VILELA, F. C.; SANTA-CECÍLIA, F. V.; DIAS, D. F.; ALVES-DA-SILVA, G.; GIUSTI-PAIVA, A. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of the stem bark of *Byrsonima intermedia* A. Juss. **Journal of Etnopharmacology**, v. 137, p. 1469-1476, 2011.

OWEMIDU, Idowu Olumorin et al. Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the methanol extract of *Waltheria americana* Linn. leaf in experimental animals. **J Intercult Ethnopharmacol**, v. 9, p. 47-54, 2018.

PAIVA, Dayane Carla Costa et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of hydroalcoholic extract from *Pseudobombax marginatum* inner bark from caatinga potiguar. **Journal of ethnopharmacology**, v. 149, n. 2, p. 416-421, 2013.

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

PAYET, B.; SING, A.S.C.; SMADJA, J. Comparison of the concentrations of phenolic constituents in cane sugar manufacturing products with their antioxidant activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54 (19), 7270-7276, 2006.

PEANA, A. T.; D' AQUILA, P. S.; CHESSA, M. L.; MORETTI, M. D. L.; SERRA, G.; PIPPIA, P. (-)- Linalool produces antinociception in two experimental models of pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 460, p. 37-41, 2003.

PEREIRA, C. K. S.; OLIVEIRA, A. M. F.; PENHA, A. R. S.; SALGADO, P. R. R.; MATIAS, W. N.; VANDERLEI, M. F.; ALMEIDA, R. N.; ASSIS, T. S. Antinociceptive activity of the ethanolic extract of *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky. **Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry**, Canela-RS. 2012

PEREIRA, C. K. S. **Estudo de ação psicofarmacológica de *Herissantia crispa* (L.) Brizicky (Malvaceae)**. 2009, 126f. Dissertação (Laboratório de Tecnologia Farmacêutica) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

PEREIRA, C. K. S. **Atividade antinociceptiva e antiinflamatória de *Herissantia crispa* (L.) Brizicky em camundongos**. 2012.Tese (Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

PEREIRA, M. S. A.; **Estudo da atividade antinociceptiva da adenosina em camundongos – análise do mecanismo de ação.** 2005, 135f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas). Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, Santa Catarina, 2005.

QI, L. W.; WANG, C. Z.; YUAN, C. S. Ginsenosides from American ginseng: Chemical and pharmacological diversity. **Phytochemistry**, v. 72, p. 689-699, 2011.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; ALMEIDA, J. R. G. S.; LIMA, J. T.; NUNES, X. P.; SIQUEIRA, J. S.; OLIVEIRA, L. E. G.; ALMEIDA, R. N.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plants with anticonvulsant properties- a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p. 798-819, 2008.

RIBEIRO, D.A et al. Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**,v.16, n.4, p.912-930, 2014.

ROCHA, F. D.; PERREIRA, R. C.; KAPLAN, M. A. C.; TEIXEIRA, V. L. Produtos de naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 631-639, 2007a.

SAÚDE-GUIMARÃES, D. A.; FARIA, A. R. Substâncias da natureza com atividade anti-*Trypanosoma cruzi*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, p. 455-465, 2007.

SENONER, Thomas; DICHTL, Wolfgang. Oxidative stress in cardiovascular diseases: still a therapeutic target?. **Nutrients**, v. 11, n. 9, p. 2090, 2019.

SBED – **Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor**. 2009. Disponível em: < <http://www.dor.org.br/publico/impactos.asp>>. Acesso em: 10 jan de 2013.

SHAH, A. S.; ALAGAWADI, K. R. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic properties of *Thespesia populnea* Soland ex. Correa seed extracts and its fractions in animal models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 1504-1509, 2011.

SHARMA, P. V.; AHMAD, Z. A. Two Sesquiterpene lactones from *Abutilon indicum*. **Phytochemistry**, v. 28, n.12, p. 3525, 1989.

SHARPE, Emily E. et al. Intrathecal morphine versus intrathecal hydromorphone for analgesia after cesarean delivery: a randomized clinical trial. **Anesthesiology**, v. 132, n. 6, p. 1382-1391, 2020.

SHIBATA, M.; OHKUBO, T.; TAKAHASHI, H.; INOKI, R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. **Pain**, v. 38, p. 347-352, 1989.

SILVA, D. A.; FALCAO-SILVA, V. S., GOMES, A. Y. S., COSTA, D. A., LEMOS, V. S. AGRA, M. F., BRAZ-FILHO, R., SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P., SOUZA, M.F.V. Triterpernes and phenolic compounds isolated from the aerial parts of *Herissantia tiubae* and evaluation of 5,4-dihydroxy-3,6,7,8,3-pentamethoxyavone as a modulator of bacterial drug resistance. **Pharmaceutical Biology**, v. 4, n. 47, p. 279-284, 2009.

SILVA, D. A.; CHAVES, M. C. O.; COSTA, D. A.; MORAES, M. R. R.; NÓBREGA, F. B. P.; SOUZA, M. F. V. Flavonoids from *Herissantia tiubae*. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, p. 197-200, 2005.

SILVA, M. G.; OLIVEIRA, F. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; OLIVEIRA, T. M. L.; DINIZ, M. F. F. M.. Investigação do Efeito Analgésico Central e Antiinflamatório de *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R.M. King & H. Robinson em Roedores. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 24, p. 533-537, 2005b.

SILVA, S. R.; BUITRÓN, X.; OLIVEIRA, L. H. O.; MARTINS, M. V. **Plantas Medicinais no Brasil: aspectos Gerais sobre legislação e comércio**. Disponível em: <http://www.traffic.org/publications/trafficc_portu.pdf>. Acesso em 17 dez de 2006.

SILVA, M. G.; OLIVEIRA, F. S.; DINIZ, M. F. F. M.; TAKEMURA, O. S. Atividade antiinflamatória do extrato etanólico de *Conocliniopsis prasiifolia* R.M. King & H. Robinson na resposta celular de neutrófilos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, 569-572, 2008.

SILVA, D. A.; FALCÃO-SILVA, V. S.; GOMES, A. Y. S.; COSTA, D. A.; LEMOS, V. S.; AGRA, M. F.; BRAZ-FILHO, R.; SIQUEIRA-JUNIOR, J. P.; SOUZA, M. F. V. Triterpenes and phenolic compounds isolated from the aerial parts of *Herissantia tiubae* and evaluation of 5,49,-dihydroxy-3,6,7,8,39-pentamethoxyflavone as a modulator of bacterial drug resistance. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, 128-133, 2009

SOUTO, A. L.; TAVARES, J. F.; DA SILVA, M. S.; DINIZ, M. F. F. M.; DE ATHAYDE-FILHO, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Anti-inflammatory activity of alkaloids: na update from 2000 to 2010. **Molecules**, v. 16, p.8515-8534, 2011.

SOUSA, F. C. F.; MELO, C. T. V.; CITÓ, M. C. O.; FÉLIX, F. H. C.; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plantas medicinais e constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista de Farmacognosia**, v. 18, p. 642-654, 2008.

SOUSA-NETO, Benedito P. et al. Antiedematogenic activity of the indole derivative N-salicyloyltryptamine in animal models. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 185-194, 2018.

STEVENS, P. F. 2003. **Angiosperm phylogeny** website. <http://www.mobot.org>. Acessado em maio de 2003.

SUTRADHAR, R. K; RAHMAN, A. M.; AHMAD, M.; BACHAR, S. C.; SAHA, A.; GUHA, S. K. Bioactive alkaloid from *Sida cordifolia* Linn. With analgesic and anti-inflammatory activities. **Iranian Journal of Pharmacology e Therapeutics**, v. 5, p. 175-178, 2006.

STUCKY, Cheryl L.; GOLD, Michael S.; ZHANG, Xu. Mechanisms of pain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 21, p. 11845-11846, 2001.

STEWART, A. G.; BEART, P. M. Inflammation: maladies, models, mechanisms and molecules. **British Journal of Pharmacology**, v. 173, n. 4, p. 631-634, 2016.

TAN, Bee Ling; NORHAIZAN, Mohd Esa; LIEW, Winnie-Pui-Pui. Nutrients and oxidative stress: friend or foe?. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, 2018

TEKULU, Gebretsadkan Hintsa et al. Anti-nociceptive and anti-inflammatory activity of *Hygrophila schulli* leaves. **Journal of Inflammation Research**, v. 13, p. 497, 2020.

TELES, Y. C. F., CHAVES, O. S., AGRA, M. F., BATISTA, L. M., QUEIROZ, A. C., ARAÚJO, M. V., ALEXANDRE MOREIRA, M. S., BRÁS-FILHO, R., SOUZA, M. F. V. Chemical constituents from *Sidastrum paniculatum* and evaluation of their leishmanicidal activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 363–368, 2015.

TELES, Y. C. F., RIBEIRO-FILHO, J., BOZZA, P. T., AGRA, M. F., SIHERI, W., IGOLI, J. O., GRAY, A., SOUZA, M. F. V. Phenolic constituents from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl. and anti-inflammatory activity of 7',4'-di-O-methylisoscutearein. Short communication. **Natural Products**, 2015.

TELES, Y. C. F., HORTA, C. C. R., AGRA, M. F., SIHERI, W., BOYD, M., IGOLI, J. O., GRAY, A., SOUZA, M. F. V. New sulphated flavonoids from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae). **Molecules**, v. 20, p. 20161-20172, 2015.

TELESA, Y. C. F., GOMES, R. A., OLIVEIRA, M. S., LUCENA, K. L., NASCIMENTO, J. S., AGRA, M. F., IGOLI, J. O., GRAY, A. I., SOUZA, M. F. V. Phytochemical investigation of *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl and evaluation of its antibacterial activity. **Quimica Nova**, v. 37, n. 9, p. 1491-1495, 2014.

TJOLEN, A.; BERGE, O. G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J. H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, p. 5-17, 1992.

TRACEY, I.; MANTYH, P. W. The Cerebral Signature for Pain Perception and Its Modulation. **Neuron Review**, v. 55, p.377-391, 2007.

VARELA, Miguel Lourenco et al. Acute inflammation and metabolism. **Inflammation**, v. 41, n. 4, p. 1115-1127, 2018.

VASQUES, C. A et al. Muscarinic agonist properties of the hydrobutanol extract from aerial parts of *Waltheria viscosissima* St. Hil. (Sterculiaceae) in rats. , v. 13, n. 4, p. 312-317,1999.

VAZ, Z. R.; CECHINEL-FILHO, V.; 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 nociceptive in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 278, p.304-312, 1996.

VAN DER POL, Atze et al. Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future. **European journal of heart failure**, v. 21, n. 4, p. 425-435, 2019.

VASCONCELOS, Fernando Holanda; ARAÚJO, Gessi Carvalho de. Prevalence of chronic pain in Brazil: a descriptive study. **BrJP**, v. 1, p. 176-179, 2018.

VENKATESH, S.; REDDY, S. R.; SURESH, B.; RESSY, B. M.; RAMESH, M. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Sida rhomboidea* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, p. 229-232, 1999.

VIEGAS, Claudenise Caldas da Silva Dantas et al. Antinociceptive, anti-inflammatory and antioxidant activities of the crude ethanolic extract and alkaloid fraction of *Waltheria viscosissima* A. St.-Hil.(Malvaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, p. 115173, 2022.

VIEGAS, Claudenise Caldas da Silva Dantas et al. Propriedades Bioativas in vitro e in vivo do gênero *Waltheria* pertencente à família Malvaceae: uma revisão da literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e19011427351-e19011427351, 2022.

YESILADA, E.; KUPELLI, E. *Clematis vitalba* L. aerial parts exhibits potent antiinflammatory, antinociceptive and antipyretic effects. **Journal of Ethnopharmacology**, 110, 504 – 515, 2007.

YESILADA, E.; GÜRBÜZ, I. A. **Compilations of the studies on the anti-ulcerogenic effects of medicinal plants**. Recent progress in medicinal plants, SCI Tech Publishing LLC: Houston, 2002.

YOUGBARE-ZIEBROU, Mouhibatou Nadège et al. Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory activities of the leafy stems of *Waltheria indica* L. (Sterculiaceae). **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 6, n. 02, p. 124-129, 2016.

YIN, Fengman et al. Microemulsion preparation of *Waltheria indica* extracts and preliminary antifungal mechanism exploration. **Industrial Crops and Products**, v. 172, p. 114000, 2021.

ZAVALA, M. A. et al. Antidiarrhoeal activity of *Waltheria americana*, *Commelina coelestis* and *Alternanthera repens*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, n. 1, p. 41-47, 1998.

ANEXOS

ANEXO II: CERTIFICADO DO CONGRESSO INTERNACIONAL EM NUTRIÇÃO CLÍNICA FUNCIONAL EM SÃO PAULO (SETEMBRO/2019)



ANEXO II: ARTIGOS PUBLICADOS OU SUBMETIDOS NA VIGÊNCIA DO DOUTORADO

- ✓ VIEGAS, C. C. da S. D.; SILVA, A. S.; BRAGA, R. M.; ANDRADE, H. H. N.; SANTOS, A. K. F. de S.; FERREIRA, M. D. L.; RIBEIRO, M. D.; SILVA, L. H. A. C.; LIMA, L. A., ALMEIDA, R. N.; SOUZA, M. de F. V.; CANTALICE, T. S. de. ANTINOCICEPTIVE, ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF THE CRUDE ETHANOLIC EXTRACT AND ALKALOID FRACTION OF *Waltheria viscosissima* A. St. - Hil. (Malvaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, 2022. (A2 – FI-4 ARTIGO ACEITO E PUBLICADO).

- ✓ VIEGAS, C. C. da S. D.; RODRIGUES, L. T.D.; CANTALICE, T. S. de. PIRES, H. F. O. Propriedades Bioativas *in vitro* e *in vivo* do gênero *Waltheria* pertencente à família Malvaceae: uma revisão da literatura. **Research, Society and Development**, 2022. (A3 – FI- 1,78 ARTIGO ACEITO E PUBLICADO).