

Avaliação da atividade anti-inflamatória e Antinociceptiva de extratos purificados de *Baccharis regnellii*, *Baccharis microdonta*, *Baccharis uncinella*, *Baccharis ligustina* e *Baccharis shultz*

1. Introdução

1.1. Fitotepápicos

Desde muito tempo, os produtos naturais, notavelmente os originados de plantas, tem sido uma importante fonte de agentes terapêuticos. De 25 a 30% de todas as drogas avaliadas como agentes terapêuticos são derivados de produtos naturais (CALIXTO, 2005). Assim as plantas medicinais tornaram-se o grande alvo das indústrias farmacêuticas e institutos de pesquisa na busca de novas drogas e compostos com atividade terapêutica (EVANS, 1996).

O principal objetivo no uso de plantas como agentes terapêuticos baseia-se em: i) isolar compostos bioativos para o uso direto como drogas; ii) produzir compostos bioativos de estrutura nova ou conhecida como protótipo para semi-síntese na produção de entidades patenteáveis com alta atividade e/ou baixa toxicidade; iii) utilizados como ferramentas farmacológicas e, iv) utilizar toda a planta ou parte desta como fitoterápico (FABRICANT & FARNSWORTH, 2001).

Os produtos naturais não apenas servem de protótipo ou modelo para medicamentos sintéticos, eles também exibem características relevantes insuperáveis por qualquer composto sintético. Uma das características dos produtos de origem natural é sua grande diversidade estrutural química. Aproximadamente 40% das substâncias químicas isoladas de produtos naturais estão ausentes na química medicinal atual, complementando as moléculas produzidas sinteticamente (MULLER-KUHRT et al., 2003).

Existem mais de 120 moléculas derivadas de plantas usadas na medicina Ocidental, com muitas delas descobertas como resultado do seu uso em vários sistemas da medicina tradicional por todo o mundo. Muitas dessas drogas derivadas de plantas são bem estudadas, tais como atropina, codeína, colchicina, pilocarpina e quinina, mais recentemente, estes exemplos incluem galanthamina (um inibidor de colinesterase usado em alguns países da Europa e Estados Unidos no tratamento da doença de Alzheimer) e paclitex (um agente anticâncer o qual tem vendagem da ordem de 1 bilhão de dólares) (KINGHORN, 2002).

No Brasil, especialmente na Região Nordeste, o uso de plantas medicinais e preparações caseiras assumem importância fundamental no tratamento das

patologias que afetam as populações de baixa renda, tendo em vista a deficiência da assistência médica, a influência da transmissão oral dos hábitos culturais e a disponibilidade da flora (MATOS, 1989). Juntos, os países da América Latina possuem grande parte da biodiversidade do mundo.

O Brasil sozinho abriga de 250.000 espécies de plantas, aproximadamente um quarto de todas as espécies conhecidas, dependendo da fonte a citada, sendo que pelo menos a metade pode ter alguma propriedade terapêutica útil à população. Porém, menos de 1% dessas espécies com potencial que já foram objeto de estudos. Muitas substâncias exclusivas de plantas brasileiras encontram-se patenteadas por empresas ou órgãos governamentais estrangeiros. Exemplo disso pode-se citar a Merck que possui plantações próprias em território brasileiro de jaborandi e fava-d'anta, para a extração de pilocarpina e rutina, respectivamente, que são comercializados no mercado externo (Academia Brasileira de Ciências, 1998). Essa grande variedade apresenta o Brasil como detentor de uma enorme biodiversidade e isso aliado a população como um povo de rica tradição na utilização deste tipo de medicamento poderia criar no Brasil uma indústria farmacêutica sólida e de base tecnológica. Destas, 10.000 podem ser medicinais, aromáticas e úteis. Como consequência, pode-se esperar potenciais descobertas de novos produtos naturais biologicamente ativos nas florestas tropicais. Com este número de espécies, não é surpresa o descobrimento de plantas ricas em produtos bioativos, que podem ter aplicação direta em medicina ou para servirem de modelo para síntese de novos medicamentos (IBD, 2005).

A pesquisa sistemática para a obtenção de novas substâncias com finalidade terapêutica pode ser executada por meio de vários processos, sendo o mais utilizado a extração, isolamento e purificação de novos compostos de fontes naturais, especialmente de origem vegetal, os quais se caracterizam como fonte inesgotável de substâncias potencialmente ativas como medicamentos.

O número de espécies vegetais superiores (angiospermas e gimnospermas) no planeta é estimado em 250.000, podendo variar entre 215.000 a 500.000. Destas, apenas 6% têm sido estudadas sobre atividade biológica e aproximadamente 15% avaliadas fitoquimicamente (FABRICANT & FARNSWORTH, 2001).

Segundo estudo realizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), o mercado mundial de todos os medicamentos no mundo é de cerca de 480 bilhões de dólares. Já o mercado mundial dos fitomedicamentos está na ordem de US\$ 20 bilhões anuais, com cerca de US\$ 400 milhões no Brasil, e vem apresentando taxas de crescimento internas da ordem de 15% contra apenas 4% dos medicamentos sintéticos (CALIXTO, 2007).

Com o objetivo de assegurar o acesso, uso correto de plantas medicinais e fitoterápicos pela população, bem como à utilização sustentável da biodiversidade brasileira e o desenvolvimento da indústria nacional, foi aprovado no dia 22 de junho de 2006 a Política Nacional de Plantas Medicinais pelo governo federal (BRASIL, 2006). Dentre as várias atividades que podem ser potencialmente exploradas a partir do uso de extratos de plantas com potencial fitoterápico estão os antiinflamatórios não esteroides e os analgésicos. Os testes que verificam as atividades analgésica e antiinflamatória estão entre os eleitos quando se deseja pesquisar a atividade de uma planta medicinal para posteriormente avançar nos estágios finais da pesquisa que validam a sua utilização pela indústria farmacêutica. Sendo assim é nosso objetivo realizar o início da investigação das atividades biológicas dos extratos de *Baccharis ssp* através dos testes antiinflamatórios e antinociceptivos.

1.2. Metabólitos secundários em plantas

Todas as plantas sintetizam, acumulam ou depositam substâncias químicas, representadas pelos compostos químicos ou grupos de compostos químicos. Estas substâncias constituem os princípios ativos, que são compostos que conferem ação terapêutica às plantas medicinais. As plantas produzem ampla diversidade de compostos orgânicos que não têm função direta no seu crescimento e desenvolvimento. Essas substâncias são conhecidas como produtos secundários ou metabólitos secundários, que têm função ligada à ecologia da planta, isto é, ao relacionamento da planta com o meio ambiente. Estes produtos, embora não necessariamente essenciais ao organismo produtor, garantem vantagens na sua sobrevivência e perpetuação da espécie, em seu ecossistema (SANTOS, 1999). A riqueza de metabólitos secundários em plantas é, pelo menos parcialmente, explicável no simples fato

de que os vegetais estão enraizados no solo e não podem responder ao meio ambiente pelas vias possíveis aos animais. De acordo com TAIZ e ZEIGER (1998), os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos principais: terpenóides, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Os terpenóides são sintetizados a partir do Acetil Coenzima A (Acetil-CoA), via rota do ácido mevalônico. Os compostos fenólicos são substâncias aromáticas formadas via rota do ácido chiquímico ou ácido acético. Os compostos nitrogenados como alcalóides, são sintetizados a partir de aminoácidos (SANTOS, 1999).

1.2.1 Flavonoides

Os flavonóides (ou bioflavonóides) representam um grupo de compostos naturais, com mais de 4000 espécies, apresentando-se como fitoquímicos (PESTERSON & DWYER, 1998). Estes são responsáveis pela absorção dos raios uv nas folhas (HARBONE, 1977), pigmentação nas flores (HARBONE, 1985) e interferentes em processos germinativos de sementes e reprodução de mudas (VIVIAN et al., 1987).

Quanto a atividade biológica, os flavonóides destacam-se como: antilipoperoxidativos (TERAO et al., 1991); antitumorais (DESCHNER et al., 1991); antiplaquetários (TZENG et al., 1991); anti-isquêmicos (RUMP et al., 1995); antialérgicos e antiinflamatórios (MIDDLETON & KANDASWAMI, 1993). Eles atuam inibindo várias enzimas, incluindo: lipoxigenase e cicloxigenase (HOULT et al., 1994); monoxigenase (SIESS et al., 1995); xantino-oxidase (COTELLE et al., 1996); fosfolipase A2 (GIL et al., 1994) e proteínas quinases (CUSHMAN et al., 1991). A maioria destes efeitos, provavelmente deriva-se das propriedades antioxidantes dos flavonóides (HOLMAN & KATAN, 1997). Estas propriedades são atribuídas por desempenharem os papéis de seqüestradores de radicais e quelantes de ferro (RATTY, 1988). Estas propriedades podem proteger os tecidos contra radicais livres de oxigênio e peroxidação lipídica, os quais estão diretamente envolvidos em graves condições patológicas como aterosclerose, câncer e inflamações crônicas (HALLIWELL, 1994).

Para atuar na proteção do organismo contra os processos oxidativos os flavonóides tem que ser estáveis e apresentar três grupos estruturais, descritos

por JANOVVIC et al., (1994): i) a estrutura catecol no anel B que é sítio alvo para os radicais; ii) dupla ligação na posição 2,3 em conjugação com uma função 4-oxo no anel C; iii) presença de grupos hidroxila nas posições 3 e 5.

1.2.2. Terpenos

Os terpenóides distribuem-se amplamente na natureza e são encontrados em abundância nas plantas superiores. Representam a segunda maior classe de metabólitos secundários com maior número de constituintes ativos. Encontram-se subdivididos em classes (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos) e são caracterizados por composição molecular do tipo $C_{10}H_{15}$, denominada unidade isopreno, por isso esses compostos são chamados isoprenóides. Durante a formação dos terpenóides, as unidades de isopreno se ligam, e o número de unidades incorporadas em determinado terpenóide serve de base para a classificação desse composto. Desta forma, temos os monoterpenos formados por duas unidades de isopreno, os sesquiterpenos, contêm três unidades de isopreno. Os diterpenos, com quatro unidades de isopreno. Os triterpenos são compostos por seis unidades de isopreno. Os tetraterpenos ou carotenóides têm oito unidades (ROBBERS et al., 1997). Aos terpenos de um modo geral podem ser atribuída ação gastroprotetora ou antiulcerogênica em diferentes modelos de lesões gástricas em animais (MATSUDA et al., 1998), ação antinociceptiva em modelos de dor induzidos por capsaicina (FERREIRA et al., 2000).

1.3. Aspectos Químicos e Farmacológicos Gênero Baccharis (Asteraceae)

A família Asteraceae é o grupo sistemático mais numeroso dentro das Angiospermas, compreendendo cerca de 1100 gêneros e 25000 espécies. São plantas de aspecto extremamente variado, incluindo principalmente pequenas ervas ou arbustos e raramente árvores. Aproximadamente 98% dos gêneros são constituídos por plantas de pequeno porte, e são encontradas em todos os tipos de habitats, mas principalmente nas regiões tropicais montanhosas da América do Sul (VERDI et al., 2005).

O gênero Baccharis, pertencente à família Asteraceae e à tribo Astereae, possui cerca de 500 espécies distribuídas principalmente no Brasil, Argentina,

Paraguai e Uruguai. A grande concentração de espécies no Brasil, principalmente no cerrado, indica que esta região é um provável centro do gênero (FERRACINI, et al., 1995). No Brasil estão descritas 120 espécies de *Baccharis*, com a maior parte delas localizada na região sudeste do país. As plantas deste gênero são em geral arbustos, como a vassoura e a carqueja, que medem até quatro metros de altura (VERDI et al., 2005).

Todas as espécies do gênero *Baccharis* apresentam elevado valor sócio-econômico, com ampla dispersão nos estados de São Paulo, Santa Catarina, Minas Gerais e Paraná, onde grande número delas, segundo VERDI et al., (2005), é utilizado na medicina popular, consumida principalmente na forma de chás com indicações para males do estômago, fígado, anemias, inflamação, diabetes, doenças na próstata, sendo também descrita como remédio para o processo de desintoxicação do organismo. Por exemplo, *Baccharis genistelloides* é uma erva medicinal muito usada no Brasil para uma variedade de doenças, tais como desordens digestivas e do fígado, malária. Úlceras, diabetes, anemia, diarreia, inflamações urinárias entre outras (VERDI et.al., 2005).

Plantas dessa família são extensivamente estudadas quanto a sua composição química e atividade biológica, sendo que algumas têm proporcionado o desenvolvimento de novos fármacos, inseticidas, dentre outros. Dentre inúmeras plantas da família Asteraceae utilizadas na medicina caseira está a *Artemísia absinthium*, uma erva de sabor amargo conhecida popularmente como losna, com benéficas funções digestivas, usadas também na fabricação de bebidas (VERDI et al., 2005). Quimicamente esta família se destaca pela enorme diversidade de metabólitos secundários, sendo caracterizada pela presença de terpenóides e poliacetilenos com destaque para a classe de flavonóides, os quais podem ser considerados como importantes marcadores quimiotaxonômicos (EMERENCIANO, et al., 2001), além de sua reconhecida importância para a medicina, no tratamento e prevenção de certas doenças (HARBONE & WILLIAMS, 2000), que podem ser consequência do estresse oxidativo e o desequilíbrio prooxidante e antioxidante no organismo (OH et al, 2003).

1.4. Atividade Antiinflamatória e Antinociceptiva

Testes para a detecção das atividades analgésica e antiinflamatória são importantes para o desenvolvimento de drogas a partir de plantas medicinais, uma vez que dor e inflamação são comumente observadas, ao mesmo tempo, nas doenças inflamatórias. As drogas antiinflamatórias atualmente disponíveis para o tratamento das várias desordens inflamatórias têm um ou mais efeito adverso e indesejáveis efeitos colaterais (GEETHA et al., 2001).

Existem muitos trabalhos sobre as ações biológicas dos triterpenos, os quais podem ser relevantes pelos seus efeitos farmacológicos, incluindo suas propriedades antiinflamatórias (SAFAYHI & SAILER, 1997).

Considerando a similaridade dos triterpenos com os compostos esteroidais, freqüentemente lhes são atribuídos, mecanismos destes agentes antiinflamatórios. Trabalhos recentes mostraram triterpenos inibindo a enzima COX-2 (ciclooxigenase) e a produção de NO (óxido nítrico) (SHIN et al., 2005); modulando a expressão de moléculas de adesão, via inibição de fator nuclear kappa B (NF-kappaB) (ZHANG et al, 2003), ou ainda inibindo a isoenzima fosfodiesterase (PDE4), um novo alvo intracelular para novas drogas antiinflamatórias (WERNIGER et al., 2005).

Muitas espécies vegetais são ricas numa gama variada de substâncias triterpenóides presentes em seus órgãos. Muitas destas plantas são utilizadas tradicionalmente como antiinflamatórios. As raízes de *Rosa rugosa* (Rosaceae), são tradicionalmente utilizadas na Coreia no tratamento de diabetes mellitus e da inflamação crônica (JUNG et al., 2005). CIFUENTE et al., (2001) demonstraram o efeito antiinflamatório dos extratos de *Baccharis medullosa* (n-hexano) e *Baccharis rufescens* (clorofórmio) após a injeção de carragenina.

Os analgésicos atuais, tais como opióides e as drogas antiinflamatórias não esteroidais, não são adequados a todos os pacientes e em todos os casos. Particularmente é na dor crônica, onde se observa limitações, como por exemplo, nos numerosos efeitos colaterais, incluindo propensão à tolerância. Dessa forma, a pesquisa visando à descoberta de outras terapias alternativas é necessária. E as plantas medicinais, conhecidas por serem importantes fonte de novas substâncias químicas com potenciais efeitos terapêuticos, são fundamentais para este fim. Portanto, a pesquisa com plantas utilizadas tradicionalmente pela população no alívio de dores, desempenha papel

estratégico na busca de novas drogas analgésicas (VONGTAU et al., 2004).

2. Materiais e Métodos

2.1 Materiais

Os reagentes empregados no projeto foram todos de grau ACS, grau HPLC ou alto grau de pureza (>99%) adquiridos da Sigma-Aldrich, Merck.

2.1.1 Coleta do Material Vegetal.

As espécies vegetais foram coletadas na região da colônia de férias da Universidade Presbiteriana Mackenzie, no município de Campos do Jordão, São Paulo, sob a autorização nº23779-1 concedida pelo SISBIO/ICMBIO/MMA. As espécies foram coletadas e identificadas pela Professora Oriana Aparecida Fávero (CCBS – UPM).

2.1.2 Obtenção de Extratos

As folhas das espécies estudadas foram submetidas às etapas de secagem e moagem. O material vegetal foi então extraído com solventes de baixa (diclorometano) e alta polaridade (metanol). As soluções foram concentradas em evaporador rotatório sob pressão reduzida fornecendo então os extratos brutos. Esse trabalho foi realizado em colaboração com os professores Dr. João Henrique Ghilardi Lago da Universidade Federal do ABC, Dra. Paulete Romoff e Dr. Marcelo José Pena Ferreira do Centro de Ciências e Humanidade da Universidade Presbiteriana Mackenzie.

2.1.3 Animais Experimentais

Foram utilizados camundongos Swiss (20-35 g) fêmeas, provenientes do biotério do CEMIB da Universidade Estadual de Campinas. Os animais foram mantidos em caixas de propileno, a temperatura ambiente 22-24°C com ciclos de claro/escuro de 12 em 12h, com comida e água ad libitum. Todos os protocolos animais foram submetidos ao comitê de ética no uso de animal da UPM e foram aprovados sob o nº 022/05/208-CEUA.

2.2. Métodos

2.2.1 Estudo de Toxicidade Aguda (DL50)

Na avaliação da toxicidade aguda foram utilizadas as frações em acetato de etila dos extratos metanólicos de *B. regnellii*, *B. microdonta*, *B. uncinella*, *B. ligustina* e *B. shultz*. As frações foram administradas intraperitonealmente (i.p.) em doses crescentes de (0,03 á 5g/Kg em 10mL/Kg) em camundongos Swiss fêmeas (25-30g), escolhidos aleatoriamente, separados em grupos de 5 animais cada, e mantidos em jejum por 12 horas. As O grupo controle recebeu igual volume de veículo (5% de dimetilsulfóxido em salina 0,9%). Os óbitos foram verificados após 48 horas (LORKE, 1983).

2.2.2 Estudo da Atividade Antiinflamatória.

2.2.2.1 Edema de pata induzido por carragenina

O edema de pata foi induzido em camundongos Swiss fêmeas (25-30g) divididos em grupos de 6 animais cada. Os animais receberam os extratos i.p., nas doses de 5, 15, 30 e 50mg/Kg de animal. No grupo controle negativo foi administrado 5% de dimetilsulfóxido em salina 0,9% 10mL/Kg. No grupo controle positivo foi administrado i.p.10 mg/Kg de indometacina. Após 1h os animais receberam a injeção subplantar de 20 μ L de carragenina 1% dissolvida em salina 0,9%. A pata contralateral recebeu o mesmo volume de salina 0,9%. Em intervalos de 30, 60, 90, 120 e 180 min da administração de carragenina o volume das patas foi registrado em plestimógrafo (Ugo Basile) e o edema expresso com a diferença, em mililitros, entre a pata que recebeu carragenina e a pata contralateral que recebeu salina (WINTER et al., 1962).

2.2.3 Avaliação da Atividade Analgésica

2.2.3.1 Nocicepção Induzida por Formalina

Camundongos Swiss fêmeas (25-30g) foram divididos em grupos de 6 animais cada, seguindo o protocolo descrito por DUBUISSON & DENNIS (1977). Os animais receberam os extratos i.p., nas doses de 5, 15, 30 e 50mg/Kg de animal. No grupo controle negativo foi administrado 5% de dimetilsulfóxido em salina 0,9% (10mL/Kg). Decorridos 60 minutos os animais receberam a injeção intraplantar de formalina 1% (20 μ L/animal). Após a

administração da formalina 1% o tempo em (s) que o animal passou lambendo a pata traseira esquerda foi cronometrado em duas fases (0-5 minutos primeira fase; 20-30 min segunda fase), sendo considerado tempo zero o momento imediatamente após a administração da formalina. O controle positivo foi realizado com morfina (7,5mg/Kg i.p.; 45 minutos antes da administração de formalina).

2.2.3.2 Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético

As contorções abdominais foram induzidas em camundongos Swiss fêmeas (25-30g) divididos em grupos de 6 animais cada, seguindo o protocolo descrito por KOSTENER et al., (1959). Os animais receberam os extratos i.p., nas doses de 30 e 50mg/Kg. No grupo controle negativo foi administrado 5% de dimetilsulfóxido em salina 0,9% (10mL/Kg). Decorridos 60 minutos da injeção dos extratos foi injetado i.p. o ácido acético (0,6%, 10mL/Kg). O controle positivo foi realizado utilizando indometacina (10 mg/Kg; ip) 45 minutos antes da administração do ácido acético. Logo após o animal foi mantido em um funil transparente para observação e as contorções abdominais serão contadas durante 20 minutos iniciando-se 10 minutos após a administração do ácido acético.

3. Resultados

3.1 Estudo de Toxicidade Aguda (DL50)

No ensaio de toxicidade aguda utilizado, não foi possível calcular a DL50 posto que não foi observada a morte de nenhum animal até 48 horas após a administração intraperitoneal (i.p.) da fase em acetato de etila dos extratos metanólicos de *Baccharis regnellii*, *Baccharis microdonta*, *Baccharis ligustrina*, *Baccharis shultz* e *Baccharis uncinella*.

]

3.2 Edema de pata induzido por carragenina

3.2.1 *Baccharis regnellii*

Os grupos que receberam a prévia administração da fase em acetato de etila do extrato metanólico de *B. regnellii* nas doses de 30 e 50 mg/Kg animal, apresentaram efeito similar ao fármaco antiinflamatório (indometacina 10mg/Kg animal) utilizado no ensaio. Decorrido 120min da administração do agente flogístico (carragenina 1%) o grupo que recebeu a dose de 50mg/Kg animal apresentou melhor resultado no combate a inflamação que o grupo que havia recebido a indometacina (Fig 1.)

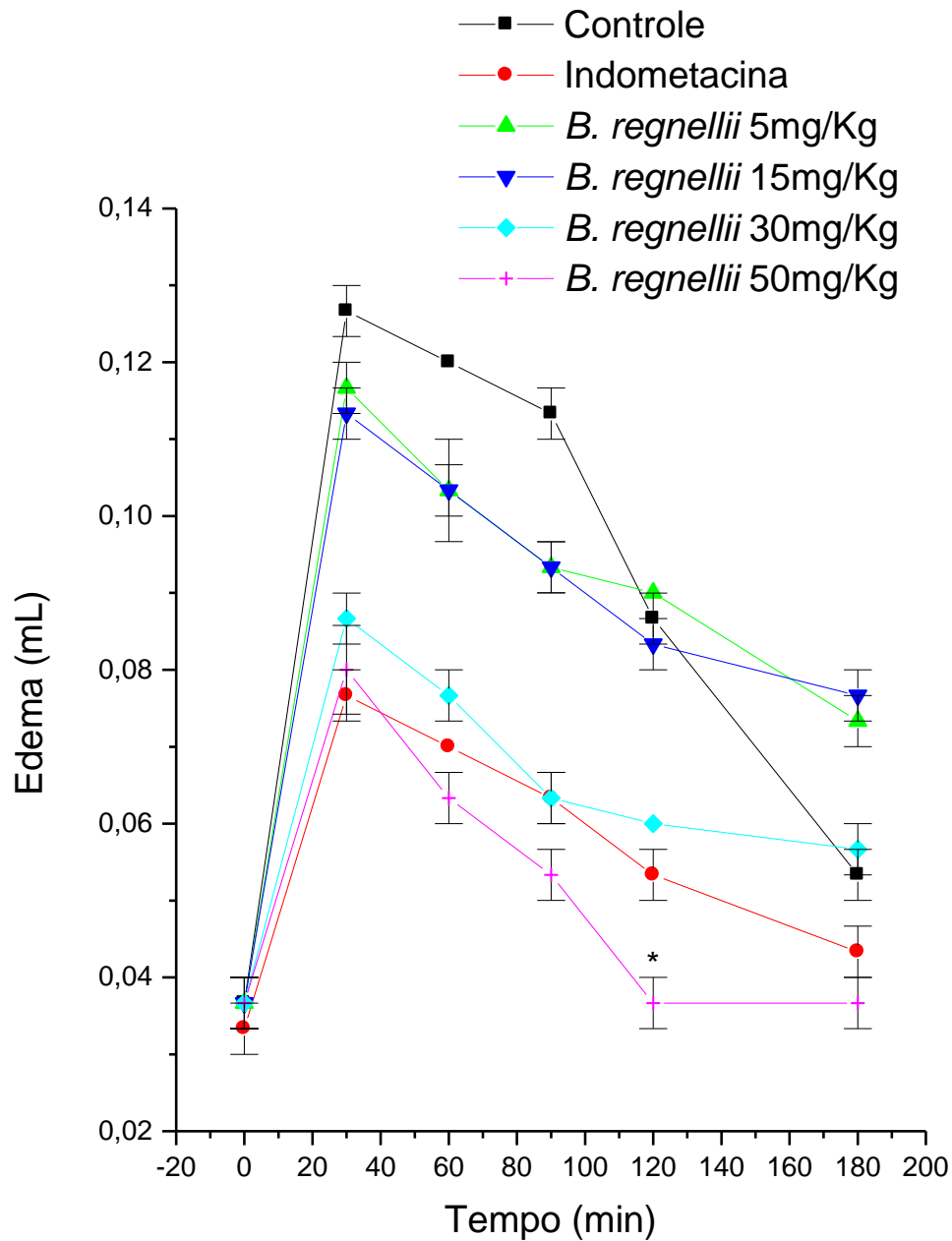


Fig 1. Edema de pata induzido por carragenina (1%) em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com indometacina (10 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis regnellii* (5, 15, 30 e 50 mg/Kg-i.p) (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.2.2 *Baccharis microdonta*

Os grupos que receberam a prévia administração da fase em acetato de etila do extrato metanólico de *B. microdonta* nas doses de 30 e 50 mg/Kg animal, apresentaram efeito similar ao fármaco antiinflamatório (indometacina 10mg/Kg animal) utilizado no ensaio. Decorrido os 180 min do experimento verificou-se normalidade no volume das patas dos animais previamente tratados com as doses acima citadas. (Fig 2).

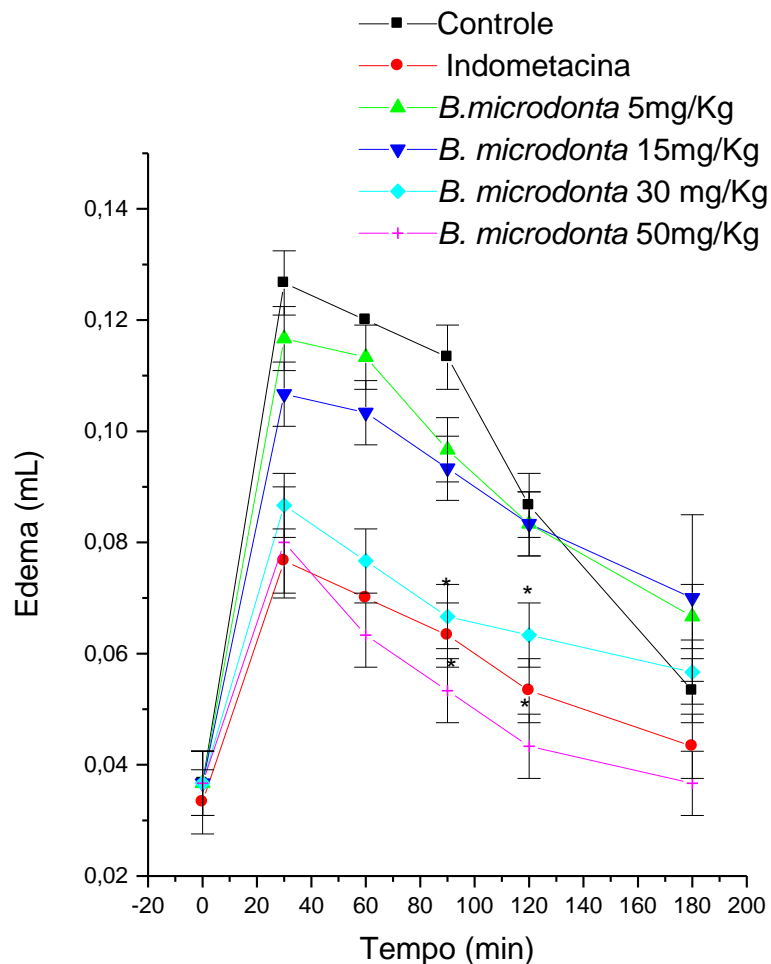


Fig 2. Edema de pata induzido por carragenina (1%) em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)- controle, (45min) com indometacina (10 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis microdonta* (5, 15, 30 e 50 mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.2.3 *Baccharis ligustrina*

A prévia administração i.p. da fase em acetato de etila do extrato metanólico de *B. ligustrina* (, 15, 30 e 50mg/Kg) não apresentou resultados próximos ao grupo que recebeu como agente antiinflamatório indometacina. Porém quando comparado ao controle o grupo que recebeu 50mg/Kg de extrato apresentou significativa inibição do edema decorrido 60 min. (Fig 3).

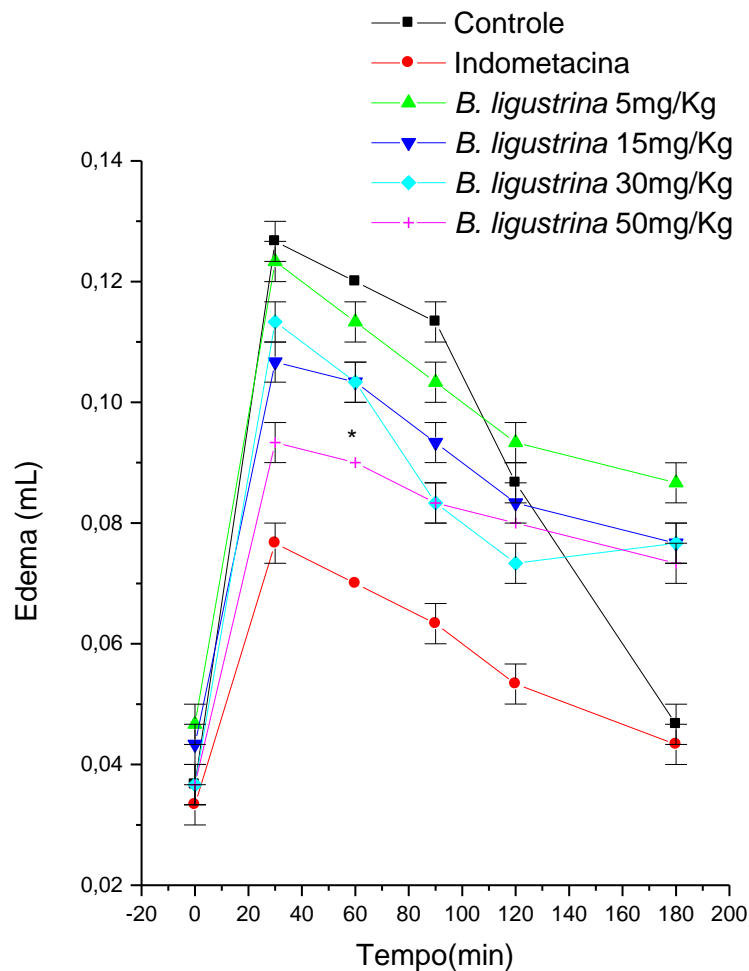


Fig 3. Edema de pata induzido por carragenina (1%) em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)- controle, (45min) com indometacina (10 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis ligustrina* (5, 15, 30 e 50 mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.2.4 *Baccharis shultz*

O grupo que recebeu a prévia administração da fase em acetato de etila do extrato metanólico de *B.shultz* na dose de 50 mg/Kg animal apresentou inibição significativa do edema quando comparado ao controle. Esse efeito antiinflamatório ficou bem observado após 30min da administração da carragenina, sendo que ao término do ensaio o edema da pata havia quase que completamente cessado (Fig 4)

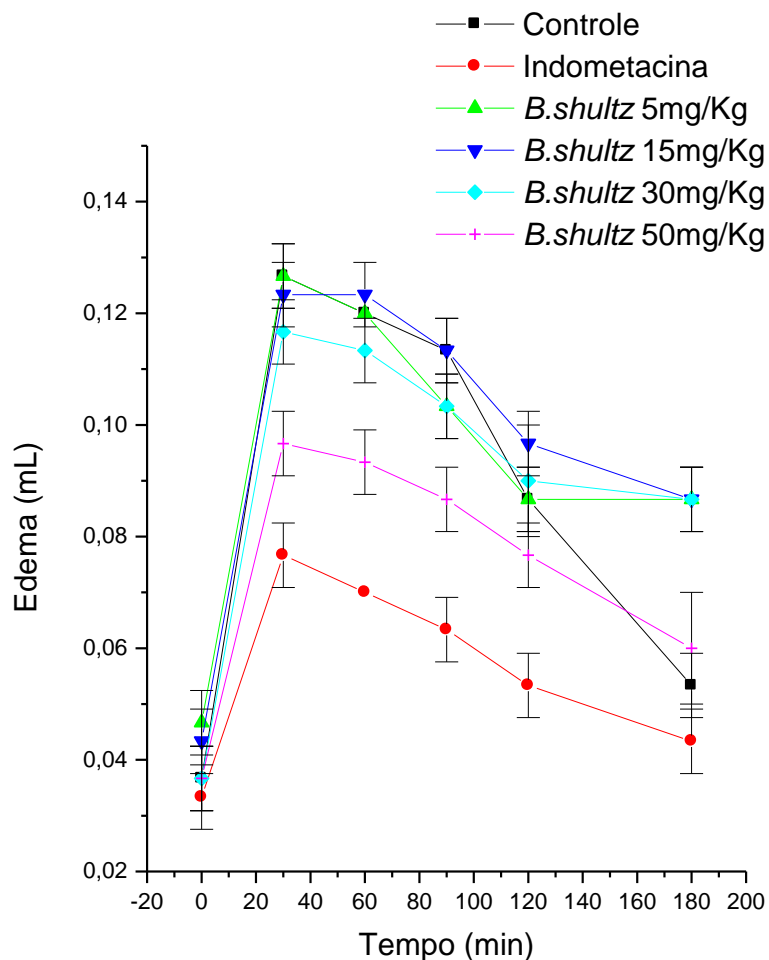


Fig 4. Edema de pata induzido por carragenina (1%) em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com indometacina (10 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis shultz* (5, 15, 30 e 50 mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.2.5 *Baccharis uncinella*

Todos os grupos que receberam a administração do extrato de *B. uncinella* apresentaram efeito antiinflamatório decorrido 30, 60 e 90 min quando comparados ao controle, entretanto esse efeito foi similar ao agente antagonista da inflamação (indometacina) somente no grupo que recebeu a dose de 50mg/Kg, sendo que nesse grupo passados os 180min do ensaio a normalidade foi restabelecida na pata que recebeu a carragenina (Fig. 5).

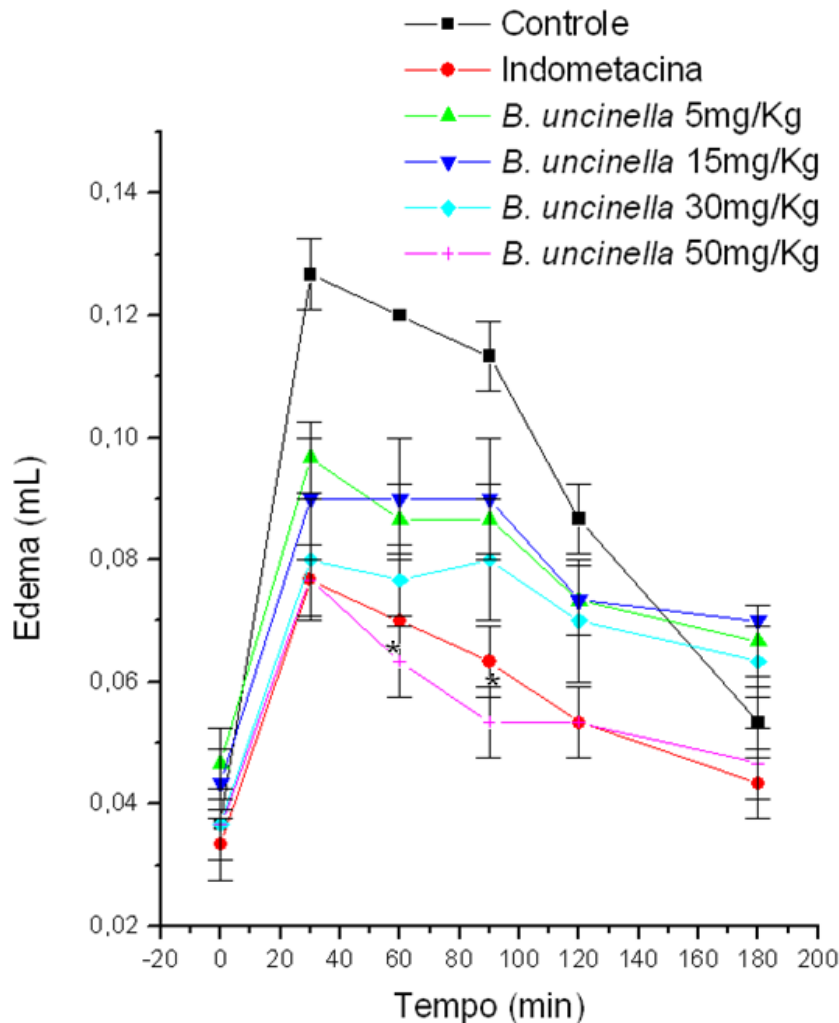


Fig 5. Edema de pata induzido por carragenina (1%) em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com indometacina (10 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis uncinella* (5, 15, 30 e 50 mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.3 Nociceção Induzida por Formalina

3.3.1 *Baccharis regnelli*

Na primeira fase no experimento de nociceção induzida por formalina não foi observada alterações no comportamento de lambar dos animais, sendo os resultados similares ao controle. Na segunda fase do experimento uma diminuição no comportamento de lambar foi observado principalmente nos grupos que previamente receberam a administração i.p. do extrato de *B. regnelli* nas dosagens de 30 e 50mg/Kg, sendo a inibição correspondente a 22% e 69% respectivamente em relação ao controle(Fig.6).

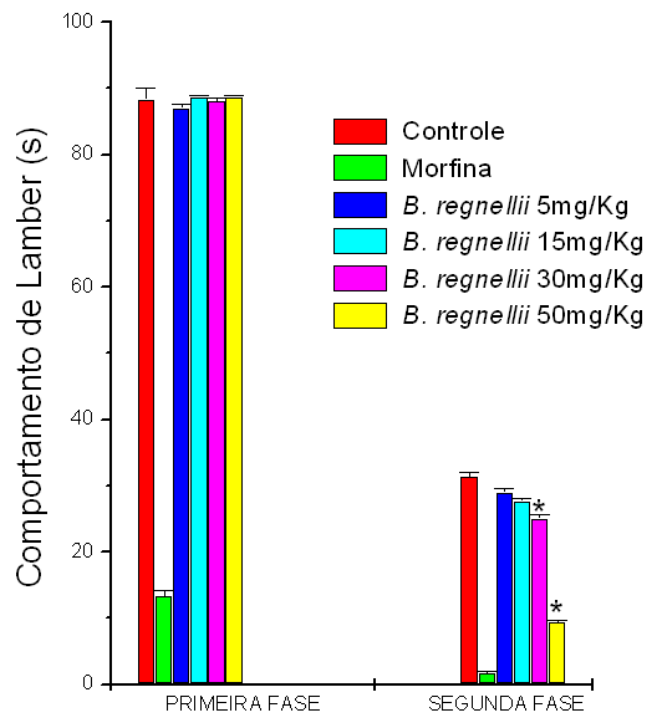


Fig 6. Nociceção induzida por formalina em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com morfina (7,5 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis regnelli* (5, 15, 30 e 50 mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.3.2 *Baccharis microdonta*

Na primeira fase do ensaio observou-se uma inibição do comportamento de lambar de aproximadamente 7% em relação ao controle no grupo que recebeu a administração de 50mg/Kg de extrato. Na segunda fase essa inibição foi de 34% e 62% nos grupos que receberam 30 e 50mg/Kg de extrato em relação ao controle (Fig. 7).

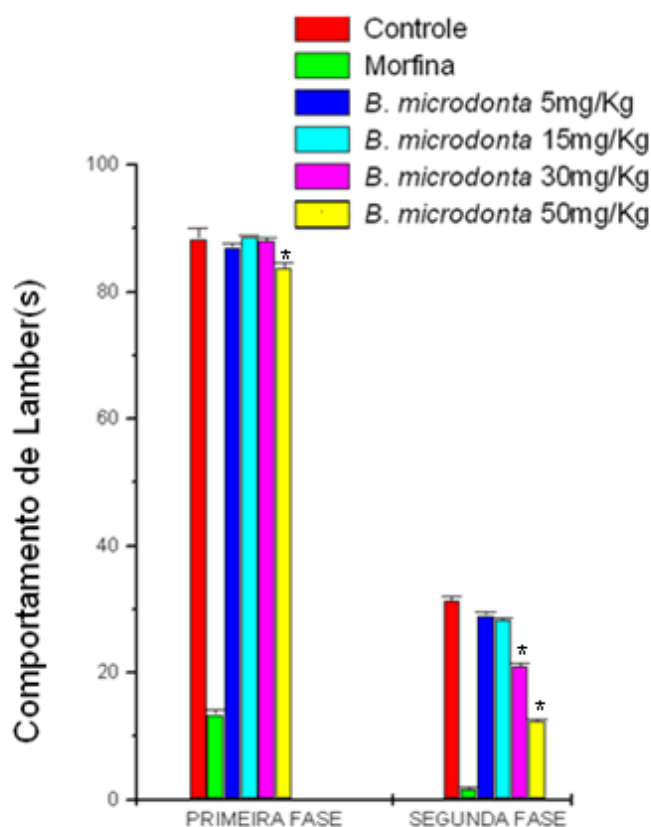


Fig 7. Nociceção induzida por formalina em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com morfina (7,5 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis microdonta* (5, 15, 30 e 50 mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.3.3 *Baccharis ligustrina*

Na primeira fase do ensaio observou-se uma inibição do comportamento de lambe de aproximadamente 19% e 31% em relação ao controle nos grupos que receberam a administração de 30 e 50mg/Kg de extrato. Na segunda fase não foi observada inibição significativa em relação ao controle (Fig. 8).

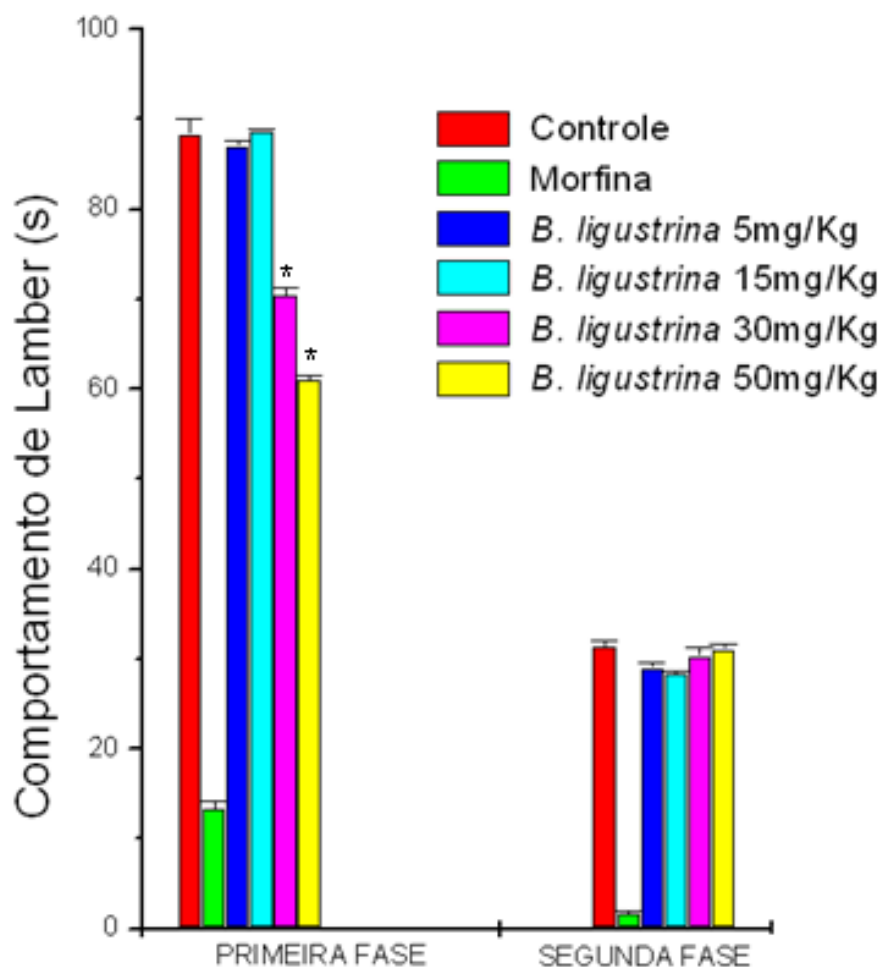


Fig 8. Nocicepção induzida por formalina em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóxido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com morfina (7,5 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis ligustrina* (5, 15, 30 e 50 mg/Kg-i.p.). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.3.4 *Baccharis shultz*

Na primeira fase no experimento de nocicepção induzida por formalina não foi observada alterações no comportamento de lamber dos animais, sendo os resultados similares ao controle. Na segunda fase do experimento uma inibição de 25% no comportamento de lamber foi observado somente no grupo que previamente recebeu a administração de 50mg/Kg de extrato (Fig.9).

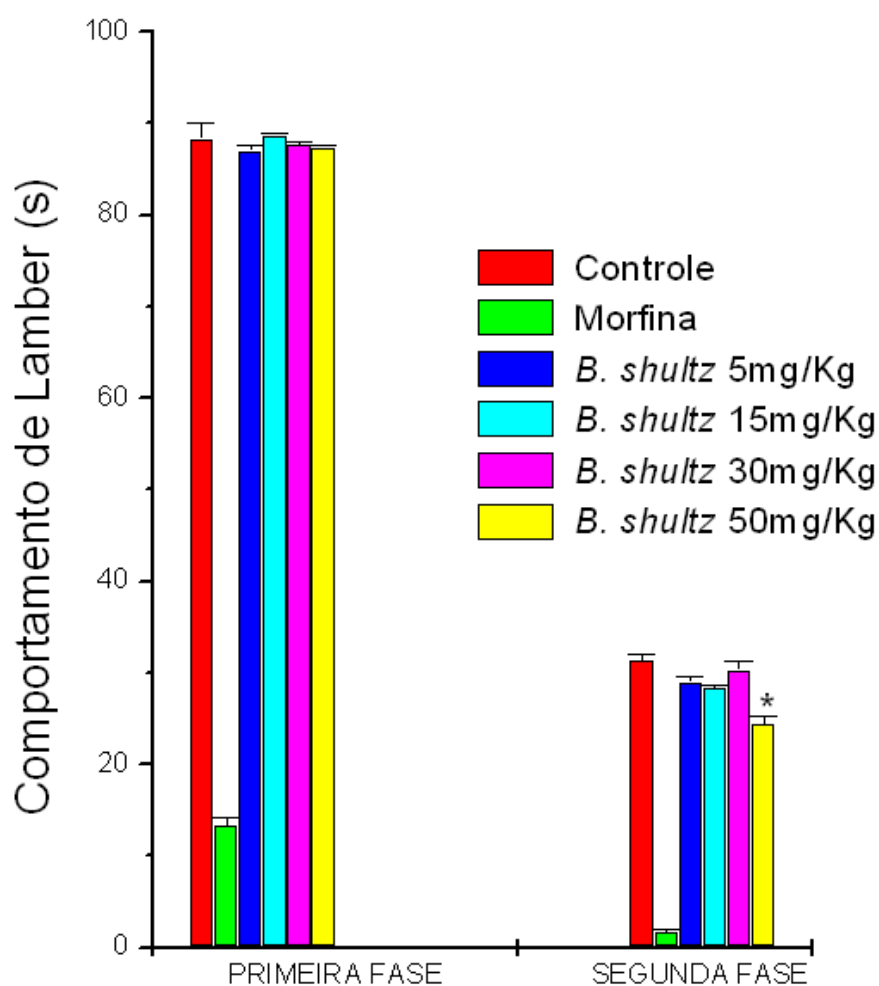


Fig 9. Nocicepção induzida por formalina em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com morfina (7,5 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis shultz* (5, 15, 30 e 50 mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.3.5 *Baccharis uncinella*

Na primeira fase no experimento de nocicepção induzida por formalina não foi observada alterações no comportamento de lamber dos animais, sendo os resultados similares ao controle. Na segunda fase do experimento inibições de 12% 13% e 37% no comportamento de lamber foram observados nos grupos que receberam a prévia administração de 15, 30 e 50mg/Kg do extrato respectivamente (Fig.10).

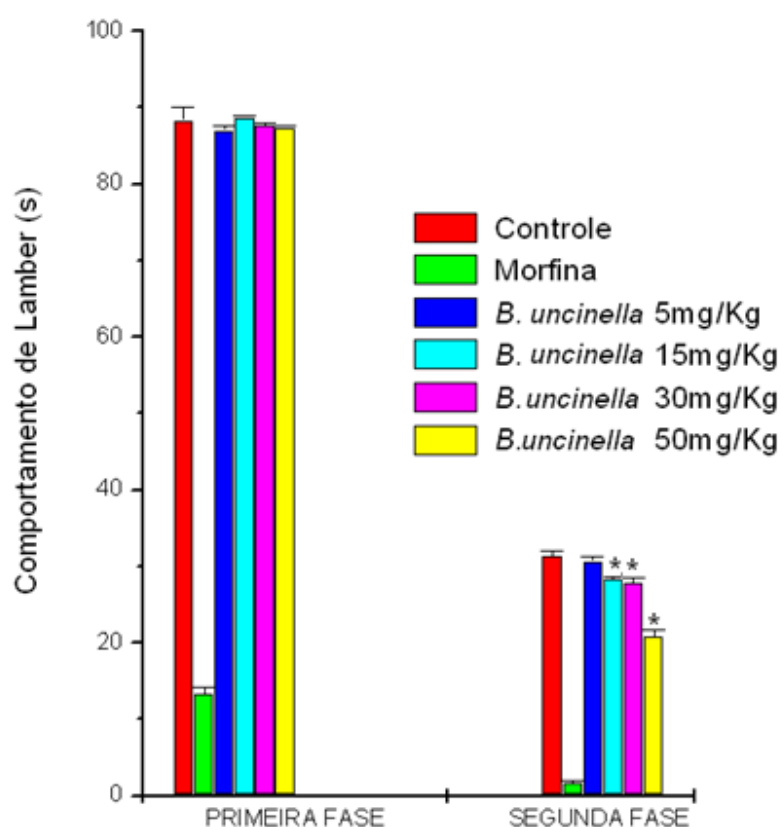


Fig 10. Nocicepção induzida por formalina em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com morfina (7,5 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis uncinella* (5, 15, 30 e 50 mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.4 Contorções Abdominais induzidas por Ácido Acético

De acordo com os resultados obtidos nos ensaios anteriores foram selecionadas as doses que apresentaram atividade para serem empregadas nesse ensaio, dessa maneira evitando o uso desnecessário de animais.

3.4.1 *Baccharis regnellii*

O grupo que recebeu a prévia administração i.p. de 50mg/Kg de extrato apresentou 78% de inibição em relação ao controle (Fig. 11)

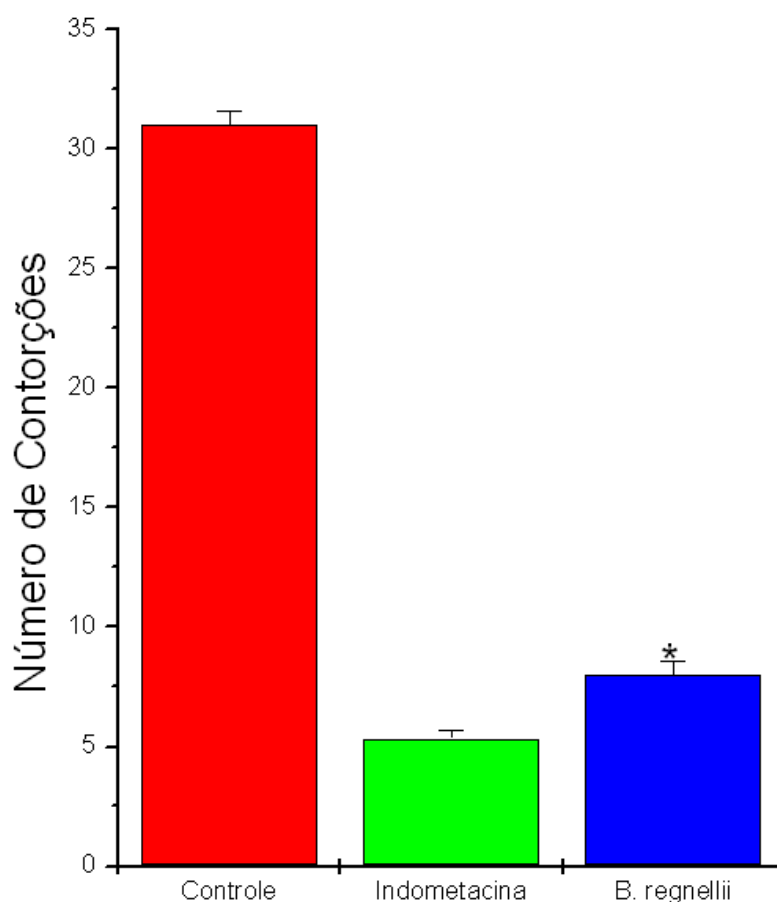


Fig 11. Contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com indometacina (10 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis regnellii* (50 mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.4.2 *Baccharis microdonta*

Os grupos que receberam doses prévias de 30 e 50mg/Kg de extrato apresentaram 28% e 34% respectivamente em relação ao controle (Fig.12)

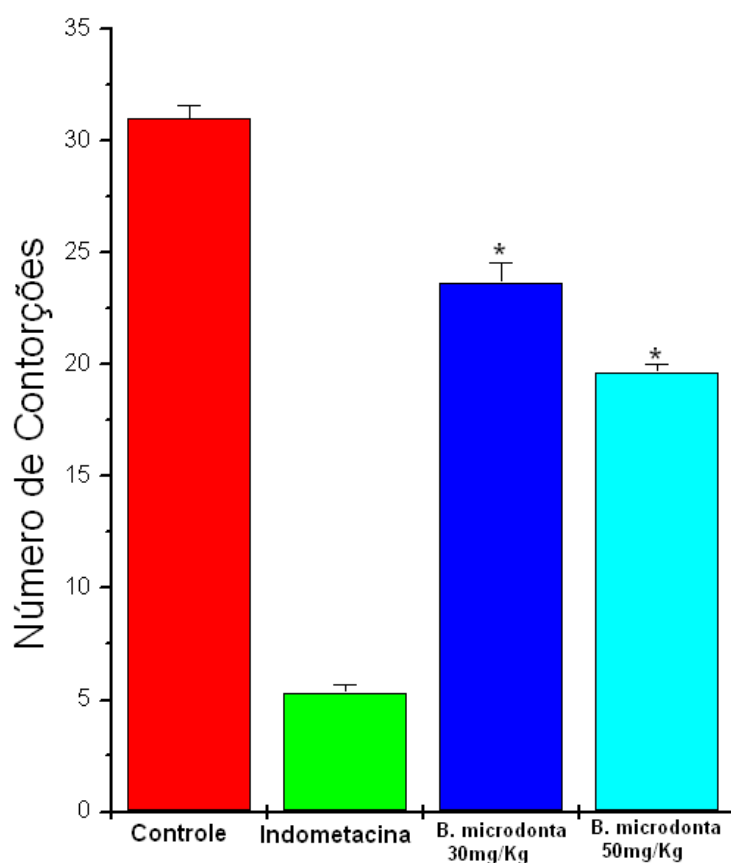


Fig 12. Contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com indometacina (10 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis microdonta* (30 e 50mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.4.3 *Baccharis ligustrina*

Os grupos que receberam doses prévias de 30 e 50mg/Kg de extrato apresentaram 16% e 41% respectivamente em relação ao controle (Fig.13)

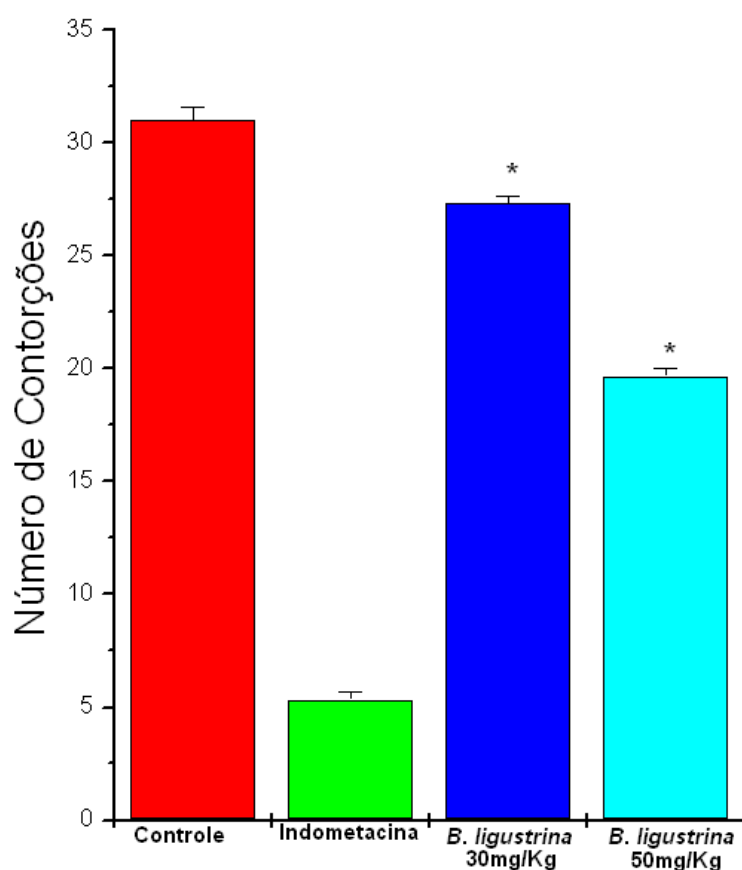


Fig 13. Contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com indometacina (10 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis ligustrina* (30 e 50mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.4.4 *Baccharis shultz*

O grupo que recebeu a prévia administração i.p. de 50mg/Kg de extrato apresentou 14% de inibição em relação ao controle (Fig. 14)

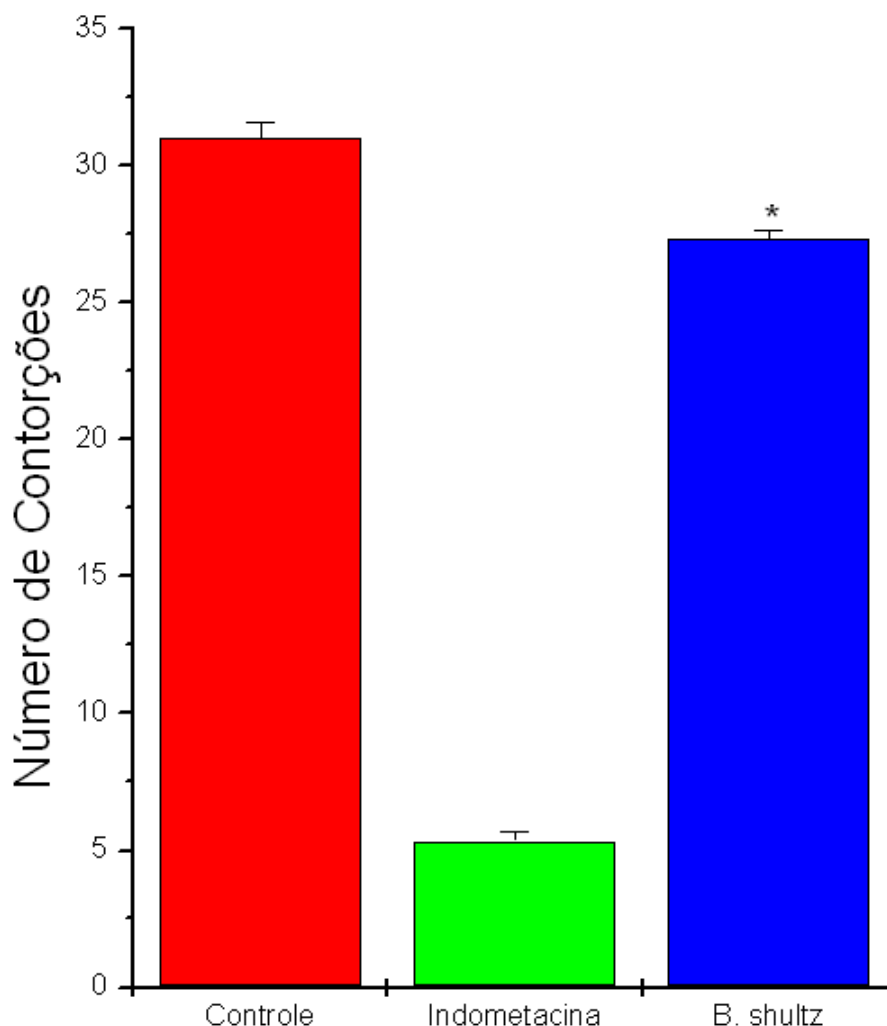


Fig 14. Contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com indometacina (10 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis shultz* (30 e 50mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

3.4.5 *Baccharis uncinella*

O grupo que recebeu a prévia administração i.p. de 50mg/Kg de extrato apresentou 34% de inibição em relação ao controle (Fig. 15)

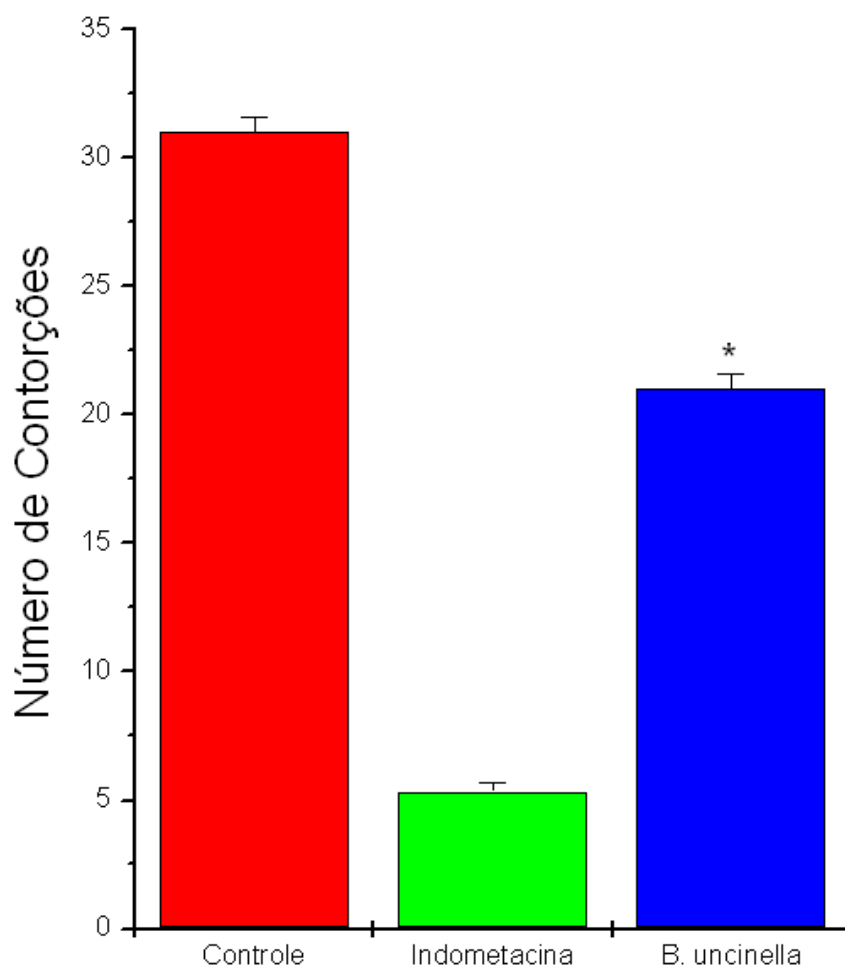


Fig 15. Contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos previamente tratados (60 min) com o veículo (5% dimetilsulfóido em solução salina 0,9% i.p.)-controle, (45min) com indometacina (10 mg/kg, i.p.) e (60min) com a fase em acetato de etila do extrato metanólico de *Baccharis uncinella* (30 e 50mg/Kg-i.p). (conforme ANOVA em conjunto com o teste de Newman-Keuls, *P<0,05).

4. DISCUSSÃO

A utilização de plantas medicinais tornou-se um recurso terapêutico alternativo de grande aceitação pela população e vem crescendo junto à comunidade médica, desde que sejam utilizadas plantas cujas atividades biológicas tenham sido investigadas cientificamente, comprovando sua eficácia e segurança (KINGORN, 2001).

Entre as drogas disponíveis derivadas de plantas encontram-se os salicilatos que levaram ao desenvolvimento das maiores classes de drogas analgésicas, principalmente, opióides e drogas antiinflamatórias não esteroidais (CALIXTO ET AL., 2001). Entretanto o potencial dos produtos naturais, como fonte de novas drogas ainda tem sido pouco explorado (HAMBURGER & HOSTETTMANN, 1991).

De acordo com LORKE (1983), substâncias cuja DL50 encontra-se acima de 5 g/kg são consideradas de baixa toxicidade e os resultados obtidos com doses acima deste valor são considerados imprecisos e de pouco valor prático. A fase em acetato de etila dos extratos metanólicos de *B. regnelli*, *B. microdonta*, *B. ligustrina*, *B. shultz* e *B. uncinela*, podem ser considerados de baixa toxicidade, posto que não foi detectada a morte de nenhum animal com doses de até 5 g/kg.

A composição química do gênero *Baccharis* baseia-se principalmente na ocorrência de substâncias terpenicas e flavonóides. Aos triterpenos são atribuídas diversas atividades farmacológicas, dentre estas podemos destacar: antiinflamatória, antiulcerogênica e antinociceptiva (ARRIETA et al., 2003).

Avaliando-se uma possível atividade antiinflamatória e antinociceptiva dos extratos de *Baccharis*, foram utilizados os modelo de edema de pata induzido por carragenina, nocicepção induzida por formalina e contorções abdominais induzidas por ácido acético.

O edema de pata induzido por carragenina tem sido utilizado como modelo de inflamação aguda com o fim de investigar os efeitos de drogas antiinflamatórias, uma vez que não produz efeitos sistêmicos, possui elevado grau de reprodutividade e sua ação inflamatória pode ser inibida por agentes antiinflamatórios esteroidais e não esteroidais (WINTER et. al, 1962). Neste modelo estão envolvidas três fases distintas: a primeira com liberação de

histamina, serotoninas, a segunda é mediada pela liberação de cininas, como a bradicinina e a fase terminal está associada com a liberação de prostaglandinas (DI ROSA et. aL., 1971). Os resultados mostraram eficiência dos extratos de *B. regnelli* e *B. microdonta* nas doses de 30 e 50mg/Kg e *B. uncinella* na dose de 50mg/Kg assemelharam-se ao efeito observado com o fármaco indometacina que foi utilizada como droga padrão. Entretanto os extratos de *B. ligustrina* e *B. shultz* na dose de 50mg/Kg apesar de não assemelharem-se a droga padrão apresentaram atividade antiinflamatória quando comparado ao controle. Os resultados mostraram que os extratos interferiram com os mediadores inflamatórios presentes no edema por carragenina.

O teste da formalina foi descrito por DUBUISSON & DENNIS (1977). Ele é realizado injetando-se formalina na pata posterior direita do animal, o que irá causar vigorosa estimulação de nociceptores, induzindo no animal um comportamento típico de lambem e/ou morder a pata injetada. Distinguiram-se duas fases durante o teste, as quais são conseqüências da liberação de diferentes mediadores (HUNSKAAR & HOLE,1987). A primeira fase tem início logo após a injeção de formalina, e perdura por 5min. Acredita-se que ela decorra da estimulação química direta dos nociceptores (aférentes tipo C e A δ), por mediadores químicos, responsáveis pela nocicepção neurogênica, como substância P, o glutamato e bradicinina (HUNSKAAR et.al., 1985). A segunda fase, tem início com 15min e termina aos 30min, após a injeção da formalina. Essa resposta é decorrente da liberação de vários mediadores químicos pro-inflamatórios, como a histamina, serotonina, prostaglandina e a bradicinina (HUNSKAAR & HOLE,1987).

Este modelo tornou-se muito importante para o estudo de fármacos com propriedades antinociceptivas, em virtude de múltiplos mediadores químicos envolvidos, os quais estimulam vários receptores, conduzindo a formação de distintas sinalizações intracelulares. Quando comparado com outros modelos para o estudo da dor, o teste da formalina, é o que mais se assemelha com as características da dor clínica aguda, seja ela de natureza química, elétrica ou mecânica (SANTOS & CALIXTO, 1997). Os resultados mostraram que os extratos. Os extratos de *B. regnelli*, *B. microdonta* e *B uncinella* na dose de 30

e 50mg/Kg apresentaram redução na 2ª fase do experimento em comparação ao controle. Os extratos de *B. microdonta* na dose de 50mg/Kg e o de *B. ligustrina* nas doses de 30 e 50mg/Kg apresentam redução na 1ª fase do experimento em comparação ao controle. Isso demonstra a eficiência dos extratos como agentes antinociceptivos, sendo que o extrato de *B. microdonta* apresenta inibição do estímulo doloroso nas duas fases do experimento.

A reação de contorções abdominais induzidas pela administração intraperitoneal do ácido acético em camundongos é descrita como um típico modelo de dor inflamatória há muito tempo tem sido utilizado como uma forma de avaliar as propriedades analgésicas ou antiinflamatórias de novas substâncias.

WHITTLE (1964) descreveu a ação do ácido acético como sendo indireta, ou seja, que a dor desencadeada por ele decorria da liberação de mediadores envolvidos na modulação da dor: prostaglandina, bradicinina, histamina e serotonina. Macrófagos e basófilos, existentes na cavidade abdominal, sob a ação do ácido acético podem liberar citocinas, como IL-8, IL-1 β e TNF- α . A nocicepção induzida pelo ácido acético é dependente da liberação destas citocinas (RIBEIRO et al., 2000). Os antiinflamatórios não esteroidais, que agem por inibirem a ciclooxigenase 1 e a ciclooxigenase 2, são efetivas em inibirem as contorções abdominais induzidas pela administração i.p. ácido acético (VANE & BOTTING, 1998). Esse modelo é considerado por alguns autores como demasiado simples, porém ele mostra-se sensível a inúmeras substâncias: analgésicos, esteroidais e não esteroidais, opióides e fármacos de ação central (RIBEIRO, 2000). Todos os extratos na dose de 50mg/Kg inibiram o número de contorções abdominais quando comparados ao controle, sendo que o de *B. regnelli* foi o que mais apresentou similaridade com o fármaco padrão (indometacina).

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados podemos concluir que:

1. Todos os extratos apresentaram atividade antiinflamatória no ensaio de edema de pata induzido por carragenina, sendo que o extrato de *B. regnelli* na dose de 50mg/Kg inibiu a inflamação causada pela carragenina mais eficientemente que o fármaco padrão (indometacina);
2. No ensaio de nocicepção induzida por formalina o único extrato que apresentou inibição nas duas fases do experimento foi o de *B. microdonta*.
3. O extrato de *B. regnelli* na dose de 50mg/Kg apresentou similaridade com a indometacina no experimento de contorção abdominal induzida por ácido acético;
4. Os extratos de *Baccharis* merecem mais estudos para futuramente poderem ser empregados como fitoterápicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS. **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. Rio de Janeiro, R.J.: 1998. 132p.
- ARRIETA, J.; BENITEZ, J.; FLORES, E.; CASTILLO, C.; NAVARRETE, A. Purification of gastroprotetive triterpenóides from stem bark of *Amphipterygium adstringes*, role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons. **Planta Medica**, v.69, p.905-909, 2003.
- BRASIL, Decreto nº 5813, de 22 de junho de 2006. **Aprova a política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília (DF).
- CALIXTO, J.B.; SCHEIDT, C.; OTUKI, M.; SANTOS, A.R.S. Biological activity of plant extracts: novel analgesic drugs. *Expert Opin Emerg. Drugs*, v.6, p.261-279, 2001.
- CALIXTO, J.B. Twenty five years of research on medicinal plants in Latin América a Personal Review. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p.131-134, 2005.
- CALIXTO, J.B. Fitomedicamentos têm notável expansão mercadológica. **Phytociencia**, v.1, p.1, 2007.
- CIFUENTE, D. A.; SIMIRGIOTIS, M. J.; FAVIER, L. S.; ROTELLI, A. E. & PELZER, L. E.; **Phytoter.** 15: 529-31, 2001.
- COTELLE, N.; BERNIER, J.L.; CATTEAU, J.P.; POMMERY, J.; WALLET, J.C. ; GAYDOU, E.M. Antioxidant properties of hidroxy-flavones. **Free Radic. Biol. Med.**, 20, p.35-43, 1996
- CUSHMAN, M.; NAGARATHNAM, D.; BURG, D.L.; GEAHLEN, R.L. Synthesis and protein-tyrosine kinase inhibitory activities of flavonoids analogues. **J. Med. Chem.**, 34, p.798-806, 1991.
- DESCHNER, E.E.; RUPERTO, J.; WONG, G.; NEWMARK, H.L. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic neoplasia. **Carcinogenesis**, 12, p.1193-1196, 1991.
- DI ROSA, M.; GIROUD, J.P.; WILLOUGHBY, D.A. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by

- carrageenan and turpentine. **Journal of Pathology**, v.104, n.1, p.15-29, 1971.
- DUBUISSON, D.; DENIS, S.G. Formalin test-quantitative study for analgesic effects of morphine, meperidine and brain-stem stimulation in rats and cats. **Pain**, 4, p.161-174, 1977.
- EMERENCIANO, V. P.; MILITÃO, J. P. S . L. T.; CAMPOS, C. C.; ROMOFF, P.; KAPLAN, M. A. C.; ZAMBON, M. & BRANDT, A. J. C.; **Biochem. System. & Ecol.** 29: 947-52; 2001.
- EVANS, C.W. **Parmacognosy**. UK:WB Saunders Company Limited, 1996.
- FABRICANT, D.S.; FARNSWORTH, N.R. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. **Environmental Health Perspectives**, v.109, n.1, p69-74, 2001.
- GEETHA, T.; VARALAKSHMI, P. Anti-inflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.76, p.77-80, 2001.
- GIL, B.; SANZ, M.J. TERCENIO, M.C.; FERRADIZ, M.L.; BUSTOS, G.; PAYA, M; GUNASSEGARAN, R.; ALCARAZ, M.J. Effects of flavonoids on *Naja naja* and human recombinant synovial phospholipases A2 and inflammatory responses im mice. **Life Science**, 54, p. 333-338, 1994.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. The definition and measurement of antioxidant in biological systems. **Free Radic. Biol. Med.**, 18, p.125-126, 1994.
- HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**, v.30, p. 3864-3874, 1991.
- HARBONE, J.B. Flavonoids and evolution of the angiosperms. **Biochem. Syst. Ecol.**, v.5, p.7-22, 1977.
- HARBONE, J.B. **Introduccion a la Bioquimica Ecológica**, 1 ed., Alambra, Inc. Spain, 47; 1985
- HARBONE, J.B.& WILLIAMS, C.A. Advances in avonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, p.481-504, 2000.
- HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. **Biomed & Pharmacother.**, 51, p.305-310, 1997
- HOULT, J.R.S.; MORONEY, M.A.; PAYA, M. Action of flavonoids and coumarins on lipoxygenase and cyclooxygenase. **Meth. Enzymol.**, 234,

- p.443-445, 1994.
- HUNSKAAR, S.; FASMER, O.B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesia. **J. Neurosci. Meth.**, v.14, p. 69-76, 1985.
- HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice:dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v.30, p.103-114, 1987.
- IBD-Bases de dados tropicais. Biodiversidade: perspectivas e oportunidades tecnológicas. Fitoterápicos. Disponível em <http://www.bdt.fat.org.br/publicações/padct/bio/cap_10/eloint.html>. Acesso em: 31 maio 2005.
- JAVANOVIC, S.V.; STEENKEN, S.; TOSIC, M.; MARJANOVIC, B.; SIMIC, M.G. Flavonoids as antioxidants. **J. Am. Chem. Soc.**, 116, p.4846-4851, 1994.
- KINGHORN, A.D.J. Pharmacognosy in the 21st century. **Pharm. Pharmacol.**, v. 53, p.135-148, 2001
- KINGHORN, A.D. The role of pharmacognosy in modern medicine. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v.3, n.2, p. 77-79, 2002.
- KOSTER, P.; ANDERSON, M.; De BEER, E.J. Acetic Acid for analgesic screening. **Fed. Proc**, 18, p.412-416, 1959.
- LORKE, D. A new approach to practical acute toxicity testing. **Arch Toxicol.**, 54, p.275-287, 1983.
- MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais**: guia de seleção e aproveitamento de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. Fortaleza: IOCE, 1989.
- MATSUDA, H.; LI, Y.; MURAKAMI, T.; YAMARA, J.; YAMARA, J.; YOSHIKAWA, M. Protective effects of oleanolic acid oligoglycosides on ethanol or indomethacin-induced gastric mucosa lesions in rats. **Life Science**, v. 63, p.245-250, 1998.
- MIDDLETON, E. Jr. & KANDASWAMI, C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: Implications for immunity, inflammation and cancer. **The Flavonoids: Advances in Research**, p.619-652, Chapman and Hall, London, 1993.
- MULLER-KUHRT, L. Proving nature back into drug discovery. **Nature**

- Brotechnology**, v.21, n.6, p. 602, 2003.
- OH, T. Y.; Lee J.S.; AHN, B.O.; CHO, H.; KIM, W.B, SURCH, Y.J.; CHO, S.W.; HAHM, J.B. Oxidative damages are critical in pathogenesis of reflux esophagitis implication of antioxidants in its treatment. **Free Radical Biology and Medicine**, 30, p.905-915, 2001.
- PETERSON J.; DWYER, J. Flavonoids: dietary and biochemical activity. **Nut. Res.**, 18, p.1995-2018, 1998.
- RATTY, A.K. & DAS, N.P. Effects of flavonoids on non-enzymatic lipid peroxidation: Structural-activity relationship. **Bioch. Med. Metabol. Biol.**, 39, p.69-79, 1988.
- RIBEIRO, R.A.; VALE, M.L.; THOMAZZI, S.M.; PHASCHOALATO, A.B.P.; POOLE, S.; FERREIRA, S.H.; CUNHA, F.Q. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 387, p.111-118, 2000.
- ROBERTS, C.W. Pretreatment with topical diclofenac sodium to decrease postoperative inflammation. **Ophthalmol.**, 103, p.636-9; 1997
- RUMP, A.F.; SCHUSSLER, M.; ACAR, D.; CORDES, A.; RATKE, R.; THEISOHN, M.; ROSEN, R.; KLAUS, W.; FRICKE, U. Effects of different inotropes with antioxidant properties on acute regional myocardial ischemia in isolated rabbit hearts. **Gen. Pharmacol.**, 26, p.603-611. 1995.
- SANTOS, A.R.S.; CALIXTO, J.B. Further evidence for the involvement of tachykinin receptor subtypes in formalin and capsaicin models of pain in mice. **Neuropeptides**, v. 31, p.381-389, 1997.
- SAFAYHI, H.; SAILER, E.R. Anti-inflammatory actions of pentacyclic triterpenes. **Review Planta Medica**, 63, p.483-493, 1997.
- SISS, M.H.; LECLERC, J.; CANIVENC-LAVIER, M.C.; RAT, P.; SUSCHETET, M. Heterogeneous effects of natural flavonoids on monooxygenase activities in human and rat liver microsomes. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 130, p.73-78, 1995.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. (1998). *Plant physiology*. 2 ed. Sinauer Associates, Inc.,

Publishers, Sunderland, Massachusetts, 1998, 792p.

- TERAO, J.; PISKULA, M.; YAO, Q. Protective effect of epicatechin gallate, and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers. **Arch. Biochem. Biophys.**, 308, p.278-284; 1994.
- TZENG, S.H.; KO, W.C.; TENG, C.M. Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids. **Thromb. Res.**, 64, p.91-100; 1991.
- VANE, J.R.; BOTTING, R.M. Mechanism of action on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **The Am. J. Medic.**, v.104, p.23-27, 1998.
- VERDI, L.G.; BRIGHENTE, L.M.C.; PIZZOLATTI, M.C. Gênero *Baccharis* (Asteraceae) aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v.28, p.85-94, 2005.
- VONGTAN, H.O.; ABBAH, J.; MOSUGU, O.; CHINDO, B.A.; NGAZAL, I.E.; SALAWU, A.O.; KWANESHIE, H.O.; GAMANIEL, K.S. Antinociceptive profile of the methanolic extract of *Neorautanenia mitis* root in rats and mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.92, n.2/3, p.317-24, 2004.
- WENIGER, B.; LOBSTEIN, A.; UM, B.H. ; VONTHRON-SENECHAU, C. ; ANTON, R. ; USUGA, N.J. ;BASARAN, H.; LUGNIER, C. Bioactive triterpenoids from *Vochysia pacifica* interact with cyclic nucleotid phosphodiesterase isozyme PDE4. **Phytotherapy Research**, v.19, n.1, p.75-77, 2005.
- WINTER, C.A.; RISTEY, E.A.; NUSS, G.W. Carrageenin-induced oedema in hind paw of the rat as na assay for antiinflammatory drug. **Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.111, p.544-547, 1962.
- WHITTLE, B.A. Reale of kinin by intraperitoneal injection of chemical agents in mice. **Int. J. Neuropharmacol.**, v.20, p.54-60, 1964.
- ZHANG, W.J.;HUFNAGE, P.; BINDER, B.R. ; WAJTA, J. Antiinflammatory activity of astragaloside IV mediated by inhibition of NF-kappa B activation and adhesion molecule expression. **Trombosis and Haemostasis**, v.90, n.5, p. 904-914, 2003.