



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA - DQB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR

CÍCERA DATIANE DE MORAIS OLIVEIRA TINTINO

**AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Croton*
campestris A. ST.-HIL (EUPHORBIACEAE) E DO CONSTITUINTE β -
CARIOFILENO EM MODELO *IN VIVO***

CRATO – CE

2017

CÍCERA DATIANE DE MORAIS OLIVEIRA TINTINO

AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Croton campestris* A. ST.-HIL (EUPHORBIACEAE) E DO CONSTITUINTE β -CARIOFILENO EM MODELO *IN VIVO*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

Área de Concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais.

Linha de pesquisa: Farmacologia de Produtos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes

CRATO – CE

2017

T593a Tintino, Cícera Datiane de Moraes Oliveira.
Ação anti-inflamatória do óleo essencial das folhas de *Croton campestris*
A. St.-Hil (Euphorbiaceae) e do constituinte β -cariofileno em modelo *in vivo* / Cícera Datiane de Moraes Oliveira Tintino – Crato, 2017.
118 f.: il.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Bioprospecção Molecular - Universidade Regional do Cariri (URCA),
2017.

Orientador: Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes

1. β -cariofileno. 2. Camundongos. 3. *Croton campestris*. 4.
Inflamação. I. Título.

CDD : 615.4

CÍCERA DATIANE DE MORAIS OLIVEIRA TINTINO

AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Croton campestris* A. ST.-HIL (EUPHORBIACEAE) E DO CONSTITUINTE β -CARIOFILENO EM MODELO *IN VIVO*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Strictu sensu* em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri (URCA), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular. Área de Concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais.

Aprovada em 09 de Junho de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Irwin Rose de Alencar Menezes (Orientador)
Universidade Regional do Cariri
Departamento de Química Biológica – URCA

Prof.^a Dr.^a Teresinha Gonçalves da Silva (Avaliadora externa)
Universidade Federal do Pernambuco – UFPE
Departamento de Antibióticos – UFPE

Prof.^a Dr.^a Marta Regina Kerntopf (Avaliadora interna)
Universidade Regional do Cariri
Departamento de Química Biológica – URCA

Prof.^a Dr.^a Maria Flaviana Bezerra Moraes Braga (Avaliadora interna)
Universidade Regional do Cariri
Departamento de Ciências Biológicas – URCA

Prof. Dr. Henrique Douglas de Melo Coutinho (Avaliador interno)
Universidade Regional do Cariri
Departamento de Química Biológica – URCA

Dedico à minha avó Rita Maria de Jesus Correia (*in memoriam*), aos meus pais Dionizio Correia de Oliveira e Francisca Alzeneide de Moraes Oliveira e ao meu esposo Saulo Relison Tintino, pelo amor, carinho, apoio e dedicação incondicional de vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao Deus dos exércitos, pois sem sua permissão nada acontece. Por todas as bênçãos, proteção, iluminação e sinais que me guiaram ao caminho que devo percorrer para exercer meu prosóito durante minha estadia neste plano.

Aos meus pais Francisca Alzeneide de Moraes Oliveira e Dionizio Correia de Oliveira pelo apoio em todos os momentos, amor, dedicação e por serem minha fonte de inspiração e sabedoria.

Ao meu esposo Saulo Relison Tintino pelo amor, carinho, atenção, companheirismo e por estar comigo em todos os momentos.

Ao professor Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes, pela orientação, pelos ensinamentos, por proporcionar oportunidades de aprendizado e por insentivar na buscar constante pelos porquês da ciência.

Às professoras Dr^a. Marta Regina Kerntopf e Dr^a. Roseli Barbosa, pela delicadeza, atenção e por se preocuparem em transmitir ensinamentos não apenas profissionias, mas para a vida.

Aos professores Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho e Dr. Francisco Assis Bezerra da Cunha pelos belos ensinamentos, conselhos e por todo apoio acolhimento e disponibilidade para ajudar.

A todos os membros da banca inclusive a professora Dr^a. Teresinha Gonçalves da Silva por aceitar ser minha orientadora nesse minha nova jornada.

Ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) na pessoa do professor Dr. José Galberto Martins da Costa.

Ao Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima, coordenado pela Profa. Dr.^a Maria Arlene Pessoa da Silva.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular (PPBM).

Ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular (PPBM) em nome da coordenação e às secretárias, em especial a Manuella Fernandes (Manú), por ser essa pessoa tão doce, gentil e por ter se tornado uma amiga.

À Faculdade de Juazeiro do Norte (FJN) na pessoa de Maria do Socorro da Silva e de todos os técnicos do laboratório.

Aos colegas de laboratório Maria Neyze Martins Fernandes, Isabel Sousa Alcântara, Renata Torres Pessoa e Bruno Anderson Fernandes da Silva pela dedicação e por disponibilizarem seu tempo e esforços para ajudar na realização deste trabalho. Às parceiras Maria Rayane Correia de Oliveira e Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins, por todo apoio, por estarem sempre dispostas a ajudar e por todos os momentos de aprendizado divididos. E a todos os colegas batalhadores LFQM por serem uma extensão de minha família.

À Andreza Guedes, pessoa de personalidade, uma das pessoas que esteve comigo bem no início da minha jornada do LFQM, com quem pude acompanhar e compreender a pesquisa na prática.

Aos amigos de longa data Luís Pereira de Moraes, Janete de Souza Bezerra e Andressa de Alencar Silva por todos os momentos partilhados, alegrias vividas e por terem sido, além de amigos, como irmãos para mim.

A todos os colegas do mestado do PPBM, em especial a Enaide Soares Santos pelo carinho e por ter se tornado uma amiga.

À família Moraes-Braga: Flaviana, Francisco, Mariana e Helena, pelo acolhimento em seus corações.

Aos amigos da Microbiologia (LMBM), por todos os momentos de alegrias e brincadeiras que dividimos.

A todos os alunos do grupo de pesquisa de professora Marta e professora Roseli. Também me sinto parte da família LFPN.

À todos que durante todos esses anos, puderam fazer parte de uma grande família LFQM-LFPN-LMBM.

À Universidade Regional do Cariri, a casa onde pude adquirir não só conhecimento e formação, mas onde conheci todas essas pessoas especiais.

Ao CNPq, FUNCAP e CAPES pelo apoio financeiro.

RESUMO

A espécie *Croton campestris* A. St.-Hil, popularmente conhecida como “velame-do-campo”, é um arbusto originário do Brasil, usado na medicina popular para diversos fins, dentre eles, no tratamento de problemas inflamatórios, dores e como depurativo. Estudos comprovam diversas atividades biológicas do *C. campestris*, além de que a análise da composição química do seu óleo essencial, realizada anteriormente revelou, dentre outros constituintes, a presença do β -cariofileno. O β -cariofileno é um sesquiterpeno bicíclico, um tipo de metabólito secundário produzido por muitas plantas. O presente estudo analisa a composição química do óleo essencial das folhas frescas de *Croton campestris* (OECC), bem como avalia o potencial anti-inflamatório do OECC e do seu constituinte o β -cariofileno, realizando os ensaios em modelos *in vivo* com camundongos *Mus musculus* (n = 6). Após ser analisada a composição química do OECC por CG-MS, realizou-se os ensaios *in vivo*, onde verificou-se a toxicidade oral do óleo essencial, para a posterior realização dos ensaios de triagem farmacológica da ação anti-inflamatória sistêmica, que incluem, teste da formalina, contorções abdominais, edema de pata induzido por carragenina e dextranana. Para triagem da ação tópica, realizou-se o edema de orelha por indução aguda e crônica com óleo de cróton. Os mecanismos de ação sistêmica foram elucidados pelos ensaios de edema de pata induzido por histamina e ácido araquidônico (AA), ensaio de peritonite, permeabilidade vascular e de granuloma. Avaliou-se também a influência do OECC em parâmetros comportamentais, através dos testes de campo aberto e placa perfurada, e verificação da influência do OECC na atividade motora, pelo ensaio de *rota-rod*. A avaliação da composição química do óleo essencial revelou a presença de β -cariofileno (15,91%), 1,8-cineol (16,98%) e germacreno-D (14,51%) como constituintes principais. O OECC não apresentou toxicidade na administração oral. As doses de OECC testadas para triagem foram 25, 50, 100 e 200 mg/Kg, juntamente com as doses equivalentes de β -cariofileno que foram 4,97, 9,94, 19,88 e 39,76 mg/Kg, de acordo com a concentração presente na composição do óleo. No ensaio de edema de orelha induzido por óleo de cróton, apenas o OECC na dose de 25 mg/Kg apresentou atividade (p < 0,001). Na ação crônica, o óleo essencial reduziu a espessura da orelha durante o tratamento, porém ao avaliar o edema ao final do experimento analisando a massa das orelhas, o óleo não apresentou atividade tópica crônica. O OECC em 100 mg/Kg mostrou-se como dose mais eficiente, juntamente com sua dose equivalente do β -cariofileno de 19,88 mg/Kg, apresentando resultados anti-inflamatórios positivos nos ensaios de formalina (p < 0,0001), contorções abdominais (p < 0,0001), edema de pata induzido por carragenina e dextranana (p < 0,001). Além de mostrarem atividade anti-inflamatória nos mecanismos de edema de pata induzido por histamina e ácido araquidônico (p < 0,0001), permeabilidade vascular (p < 0,0001), peritonite (p < 0,0001) e ensaio de granuloma, onde neste último, apenas o OECC apresentou resultado (p < 0,0001). Na avaliação da ação central do OECC pelos testes de campo aberto e placa perfurada, não observou-se diferença significativa dos dados em relação ao controle salina, o mesmo resultado se aplica ao ensaio de *rota-rod*. Os resultados indicam principalmente uma ação anti-inflamatória sistêmica pronunciada do OECC tanto na fase aguda como crônica, onde sua ação envolve possivelmente a inibição de metabólitos do ácido araquidônico e de mediadores como a histamina e serotonina, prevenindo eventos vasculares como aumento da permeabilidade e vasodilatação, onde seu constituinte β -cariofileno possui grande influência na sua ação, haja vista os resultados obtidos com o sesquiterpeno isolado.

Palavras-chave: β -cariofileno, camundongos, *Croton campestris*, inflamação.

ABSTRACT

The species *Croton campestris* A. St.-Hil, popularly known as “velame-do-campo”, is a shrub native to Brazil, used in popular medicine for several purposes including the treatment of inflammatory problems, pain and as a depurative. Studies have demonstrated several biological activities of *C. campestris*, and the analysis of the chemical composition of its essential oil, previously performed revealed, among other constituents, the presence of β -caryophyllene. The β -caryophyllene is a bicyclic sesquiterpene, a type of secondary metabolite produced by many plants. The present study analyzes the chemical composition of the essential oil of *Croton campestris* (EOCC), as well as evaluates the anti-inflammatory potential of the EOCC and its constituent β -caryophyllene, carrying out the assays in *in vivo* models with mice *Mus musculus* (n = 6). After analyzing the chemical composition of the EOCC by GC-MS, the *in vivo* assays were performed, where the oral toxicity of the essential oil was verified, for the subsequent performance of the pharmacological screening tests of the systemic anti-inflammatory action, which included, formalin test, abdominal contortions, paw edema induced by carrageenan and dextranana. To evaluate the topical action, ear edema was performed by acute and chronic induction with croton oil. Mechanisms of systemic action were elucidated by histamine and arachidonic acid (AA) induced paw edema, peritonitis, vascular permeability and granuloma assays. The influence of EOCC on behavioral parameters was also evaluated through open field and perforated plate tests and the influence of EOCC in the motor activity on the *rota-rod* test. The evaluation of the chemical composition of the essential oil revealed the presence of β -caryophyllene (15.91%), 1,8-cineole (16.98%) and germacrene-D (14.51%) as main constituents. The EOCC did not showed toxicity on oral administration. The doses of the EOCC tested for screening were 25, 50, 100 and 200 mg/Kg, together with the equivalent doses of β -caryophyllene which were 4.97, 9.94, 19.88 and 39.76 mg/Kg, of according to the concentration present in the oil composition. In the test of ear edema by croton oil, only EOCC at the dose of 25 mg/Kg showed activity ($p < 0.001$). In the chronic action, the essential oil reduced ear thickness during the treatment, but when evaluating the edema at the end of the experiment by the mass of the ears, the oil did not showed activity in the edema chronic topical. The EOCC at 100 mg/Kg was shown to be a more efficient dose, together with its equivalent dose of β -caryophyllene, of 19.88 mg/Kg, presenting positive anti-inflammatory results in the formalin assays ($p < 0.0001$), abdominal contortions ($p < 0.0001$), paw edema induced by carrageenan and dextranana ($p < 0.001$). In addition to showing anti-inflammatory activity in the paw edema mechanism induced by histamine and arachidonic acid ($p < 0.0001$), vascular permeability ($p < 0.0001$), peritonitis ($p < 0.0001$) and granuloma assay, where in the latter only the EOCC presented a result ($p < 0.0001$). In the evaluation of the central action of the EOCC by the open field and perforated plate tests, no significant difference was observed in relation to the saline control, the same result applies to the hod route assay. The results indicate mainly a pronounced systemic anti-inflammatory action of EOCC in both the phases acute and chronic, where its action involves possibly the inhibition of AA metabolites and mediators such as histamine and serotonin, preventing vascular events such as increased permeability and vasodilation, where its constituent β -caryophyllene has great influence on its action, given the results obtained with sesquiterpene alone.

Key words: β -caryophyllene, *Croton campestris*, inflammation, mice.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Migração leucocitária.....	18
Figura 2. <i>Croton campestris</i> A. St.-Hil	28
Figura 3. Representação da estrutura química do β -cariofileno.....	31
Figura 4. Efeito tópico do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> sobre o edema agudo de orelha induzido por óleo de cróton.....	46
Figura 5. Efeito tópico do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> sobre o edema crônico de orelha induzido por óleo de cróton.....	48
Figura 6. Efeito do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> e do β -cariofileno sobre contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	50
Figura 7. Efeito do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> no ensaio da formalina.....	52
Figura 8. Efeito do β -cariofileno no ensaio da formalina.....	52
Figura 9. Efeito do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> sobre o edema de pata induzido por carragenina.....	54
Figura 10. Efeito do β -cariofileno sobre o edema de pata induzido por carragenina.....	55
Figura 11. Efeito do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> sobre o edema de pata induzido por dextrana.....	57
Figura 12. Efeito do β -cariofileno sobre o edema de pata induzido por dextrana.....	58
Figura 13. Efeito do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> e do β -cariofileno sobre o edema de pata induzido por araquidônico.....	59
Figura 14. Efeito do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> e do β -cariofileno sobre o edema de pata induzido por histamina.....	61
Figura 15. Efeito do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> e do β -cariofileno sobre o percentual de leucócitos (linfócitos e monócitos).....	62

Figura 16. Efeito do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> e do β -cariofileno sobre a permeabilidade vascular.....	64
Figura 17. Efeito do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> e do β -cariofileno sobre o granuloma.....	66
Figura 18. Influência do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> sobre parâmetros comportamentais em camundongos.....	68
Figura 19. Influência do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> sobre a coordenação motora no ensaio de <i>rota-rod</i>	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química do óleo essencial das folhas de <i>Croton campestris</i> A. St.-Hil.....	44
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS

- 5-HPETE** - ácido 5-hidroperoxieicosatetraenoico
- 5-HT** – Serotonina
- AA** – Ácido araquidônico
- AINES** – Anti-inflamatórios não esteroides
- ANOVA** – *Analysis of varianses* (Análise de Variância)
- CEUA** – Comissão de Experimentação e Uso de Animais
- CG-MS** – Cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massa
- CIM** – Concentração inibitória mínima
- COX** – Cicloxigenase
- EPM** – Erro padrão da média
- i.p.** – Intraperitoneal
- IL** - Interleucina
- INF** – Interferon
- LOX** – Lipoxigenase
- LT** - Leucotrieno
- LX** - Lipoxina
- N** – Número
- NFκB** - Fator de necrose kappa B
- NO** – óxido nítrico
- NOS** – Óxido nítrico sintase
- OECC** – Óleo essencial de *Croton campestris*
- PBS** - *phosphate buffered saline* (tampão fosfato – salino)
- PG** – Prostaglandina;
- PI** – Prostaciclina
- PKC** - Proteína quinase C
- rpm** – Rotações por minuto
- TGF** - Fator transformador de crescimento
- TNF**- Fator de necrose tumoral
- TX** - Tromboxano
- v.o.** – Via oral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO	16
1.1.1 O processo inflamatório.....	16
1.1.2 Migração leucocitária	17
1.1.3 Eicosanoides.....	18
1.1.4 Citocinas.....	21
1.1.5 Fator de transcrição nuclear kappa B.....	24
1.1.6 Aminas.....	24
1.1.7 Cininas.....	25
1.1.8 Óxido nítrico.....	25
1.1.9 Plantas medicinais na inflamação.....	26
1.1.10 Gênero <i>Croton</i> e espécie <i>Croton campestris</i>	27
1.1.11 β -cariofileno.....	30
1.2 JUSTIFICATIVA	32
2. OBJETIVOS	33
2.1 OBJETIVO GERAL.....	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
3. RESULTADOS	34
3.1 ARTIGO – Ação anti-Inflamatória do óleo essencial de <i>Croton campestris</i> A. St.-Hil (Euphorbiaceae) e do composto β -cariofileno em modelos <i>in vivo</i>	35
4. DISCUSSÃO	88
5. CONCLUSÃO	93
6. REFERÊNCIAS	95
ANEXO A – DECLARAÇÃO DO CEUA.....	117
ANEXO B – NÚMERO DE HERBÁRIO.....	118

APRESENTAÇÃO

Esta Dissertação está organizada sob forma de artigo. O Referencial Teórico apresenta uma revisão sobre o processo inflamatório, os mediadores envolvidos, além de focar o gênero *Croton*, fazendo um levantamento das espécies desse grupo que apresentam atividade anti-inflamatória já comprovada; sobre a espécie *Croton campestris*, descrevendo seus usos na medicina popular, e todas as atividades biológicas comprovadas na literatura; e sobre o β -cariofileno, descrevendo essa substância e fazendo um levantamento de suas atividades biológicas comprovadas.

O tópico Resultados compõe o artigo completo, onde estão agregados a Introdução do artigo, Materiais e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusão e Referências. O artigo intitula-se: Ação anti-inflamatória do óleo essencial de *Croton campestris* A. St.-Hil (Euphorbiaceae) e do composto β -cariofileno em modelos *in vivo*.

A Discussão e Conclusão são apresentados em uma visão geral do trabalho, logo após o artigo.

As Referências ao final da Dissertação, correspondem às citações do Referencial Teórico e da Discussão geral. As referências do artigo estão logo ao final do mesmo.

A inflamação é uma resposta do tecido vascularizado em defesa do organismo contra estímulos nocivos, sendo caracterizada pelos sinais cardinais de edema, dor, vermelhidão da pele, aumento da temperatura no local inflamado e perda da função do órgão ou tecido acometido. É acompanhada por diversos eventos celulares e vasculares tais como migração leucocitária, vasodilatação, acúmulo de fluido intersticial e da sensibilização dos terminais nociceptivos. Diversos mediadores são sintetizados e liberados neste processo tais como cininas, aminas vasoativas, óxido nítrico, citocinas como o fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucinas (ILs), dentre elas, a IL-1 β e IL-6 (MEDZHITOV, 2010; KUMAR et al., 2013).

A inflamação divide-se em fases aguda e crônica. A fase aguda é caracterizada pelo recrutamento de neutrófilos, aumento do fluxo sanguíneo, aumento da permeabilidade e dilatação dos vasos, levando ao extravasamento de proteínas e de plasma ao local inflamado, resultando em edema e vermelhidão no local afetado (KUMAR et al., 2013; BUCKLEY et al., 2014).

Se o agente agressor não é neutralizado ou eliminado, ocorre agravamento do estado patológico da inflamação, resultando na fase crônica, caracterizada pela persistência e exacerbação da inflamação, transformando-se em um processo prejudicial ao invés de reparador. Durante essa fase, há predominância de macrófagos, redução no número de neutrófilos por meio de apoptose ou fagocitose, remodelação e degeneração tecidual, ocasionando fibrose acompanhada de angiogênese, levando a perda da função do órgão ou tecido afetado (LAWRENCE et al., 2002; MEDZHITOV, 2010; KUMAR et al., 2013; BUCKLEY et al., 2014).

Diversos produtos naturais são utilizados na medicina popular como agente anti-inflamatório, sendo essa prática comum em diversas comunidades devido a crença de que não possuem efeitos colaterais ou que possuem baixa toxicidade além de serem de fácil acesso (VEIGA-JUNIOR et al., 2005).

Dentre essas plantas medicinais, destaca-se a espécie *Croton campestris* A. St.-Hil, um arbusto originado no Brasil, ocorrendo principalmente nas regiões Sudeste e Nordeste, sendo popularmente conhecido como “velame-do-campo”, “velame-verdadeiro” ou “velame-branco”,

cujos estudos etnofarmacológicos apontam, dentre tantos outros usos, a sua aplicação como agente anti-inflamatório natural (CORRÊA, 1975; DANTAS, 2007; BRANDÃO et al., 2012; BRITO-JÚNIOR et al., 2015).

O uso constante dessas plantas pela população serviu de base para incentivar e direcionar o desenvolvimento de pesquisas visando comprovar o potencial anti-inflamatório de produtos naturais, porém, apesar dos trabalhos já desenvolvidos, o potencial de muitas plantas medicinais e de seus constituintes ainda encontra-se escassamente explorado (CALIXTO, 2000; RATES, 2001; VEIGA-JUNIOR et al., 2005; VEIGA-JUNIOR; MELLO, 2008).

Dessa forma, tendo em vista a escassez na literatura de estudos farmacológicos da ação anti-inflamatória direcionados à espécie *Croton campestris* A. St.-Hil, pretende-se com o presente trabalho avaliar o efeito do óleo essencial das folhas desta espécie e do seu constituinte β -cariofileno sobre a inflamação através de modelos *in vivo*, buscando elucidar os possíveis mecanismos de ação de tais substâncias.

1.1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1 O Processo Inflamatório

Em defesa a diferentes estímulos nocivos, sejam físicos, químicos, patológicos e biológicos, o organismo reage com uma cascata de processos que envolvem componentes vasculares, celulares e moleculares (PARKIN; COHEN, 2001; COTRAN et al., 2006). Esses eventos compõem o processo inflamatório, cujo objetivo final é eliminar estímulo danoso iniciador do processo, com reparação, cicatrização e a regeneração do tecido afetado (ABBAS et al., 2012).

Os estímulos nocivos que desencadeiam essas reações podem ser: infecções por microrganismos, reações autoimunes ou de hipersensibilidade, necrose tecidual, trauma ou lesões por agentes físicos, hipóxia e outros estímulos como corpos estranhos (KUMAR et al., 2013). A resposta fisiológica leva às manifestações clínicas observadas, descritas como sinais cardinais da inflamação: rubor, calor, edema, dor e perda da função (LAWRENCE et al., 2002; MEDZHITOV, 2010; LYMAN et al., 2014; BUCKLEY et al., 2015).

A inflamação divide-se em fases aguda e crônica. Na fase aguda, logo após a lesão, ocorrem marcantes eventos vasculares, como aumento do fluxo sanguíneo, modificações no endotélio acompanhadas de aumento da permeabilidade e vasodilatação, levando ao extravasamento de proteínas e de plasma ao local inflamado, resultando em edema acompanhado de vermelhidão no local afetado (KUMAR et al., 2013; BUCKLEY et al., 2015). Esses fatores possibilitam o recrutamento de leucócitos, mais especificamente os neutrófilos. Em seguida, a concentração de neutrófilos diminui, dando espaço aos monócitos, que se diferenciam em macrófagos à medida que estes migram para os tecidos. Essa diminuição de neutrófilos se dá pelo fato de que, após agirem, sofrem apoptose e são fagocitados por macrófagos para resolução do processo (LAWRENCE et al., 2002; NORLING; SERHAN, 2010; BUCKLEY et al., 2014).

A fase crônica ocorre quando o estímulo danoso não consegue ser eliminado por fagocitose, ou apoptose de células inflamatórias, resultando na persistência da inflamação como uma resposta exacerbada e, por conseguinte, a inflamação torna-se um processo prejudicial ao invés de reparador. Logo, essa resposta torna-se mais intensa através do aumento da ativação e

concentração de macrófagos, acompanhado de remodelação e degeneração tecidual, ocasionando fibrose acompanhada de angiogênese, levando a perda da função do órgão ou tecido afetado (MEDZHITOV, 2010; KUMAR et al., 2013; ROGERIO et al., 2015).

Na inflamação crônica ocorre um predomínio da resposta imune adaptativa, com maior presença de monócitos, macrófagos e linfócitos (SERHAN et al., 2007; CRUVINEL et al., 2010; GOMES et al., 2015). Estímulos que causam essa reação são infecção por micro-organismos, doenças autoimunes, componentes tóxicos endógenos no próprio plasma e exógenos (PERKINS, 2010; KUMAR et al., 2013). Como doenças crônicas geradas por esse processo pode-se citar: artrite reumatoide, bronquite crônica, asma, esclerose múltipla, aterosclerose, fibrose pulmonar, glomerulonefrites, infarto do miocárdio e câncer (RUSSO et al., 2011; COMINI-FROTA et al., 2012). A constante renovação celular nesta etapa, leva a necessidade de maior número de mitoses, aumentando a chance de ocorrência de neoplasias (ADEFUYE; SALES, 2012).

Além disso, muitos são os mediadores inflamatórios envolvidos na inflamação tais como: aminas vasoativas, cininas, fator de ativação plaquetária, eicosanoides, citocinas, radicais livres, óxido nítrico (NO) e neuropeptídios (RANG et al., 2012).

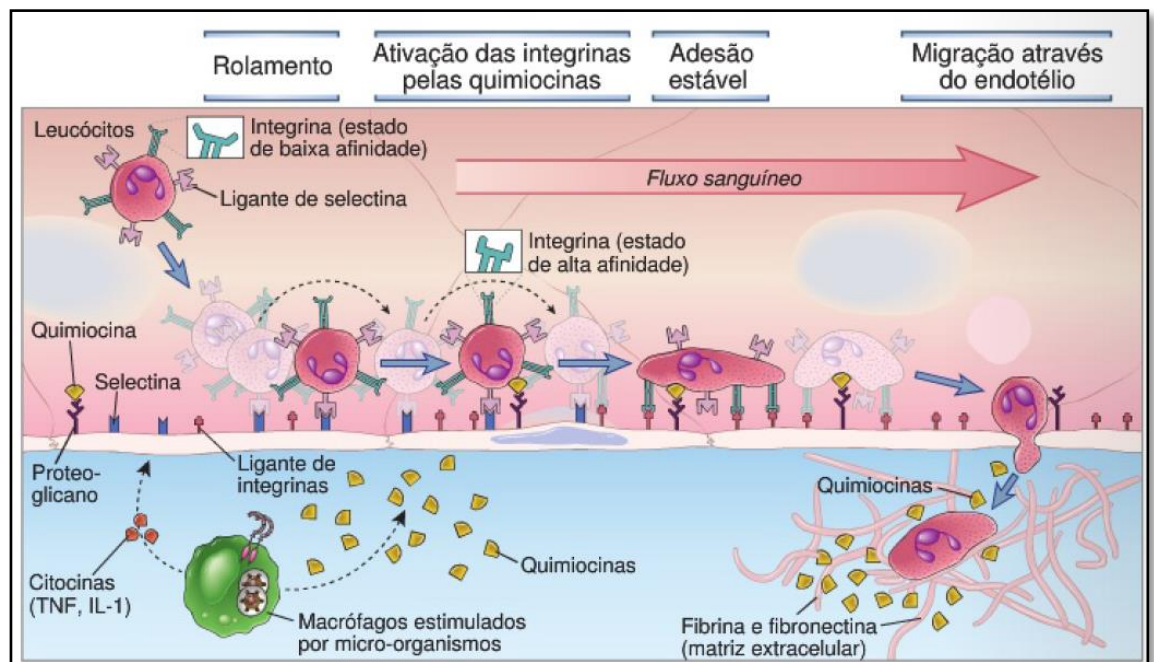
1.1.2. Migração Leucocitária

A migração dos leucócitos do tipo neutrófilos objetiva neutralizar o patógeno invasor. Essa migração leucocitária é seguida de várias etapas: atração, captura, rolamento, adesão e transmigração (ou diapedese) do leucócito. Após o estímulo inflamatório, ocorre modificações na permeabilidade do endotélio, ocasionando no extravasamento do plasma do interior do vaso para o meio intersticial. Isso acarreta em um aumento na concentração de hemácias no interior do vaso, tornando o sangue mais viscoso, deixando o fluxo lento, facilitando a marginalização leucocitária, que consiste na movimentação de leucócitos, onde por meio de mediadores quimiotáticos, os leucócitos são atraídos para as proximidades do endotélio, aderindo-se a este (FRANCISCHETTI et al., 2010).

Em seguida, ocorre o rolamento destas células pelo endotélio, através das moléculas de adesão, as selectinas, especificamente a L-selectina, presente nos leucócitos, a P-selectina, pré-formada e armazenada nas plaquetas e células endoteliais, e a E-selectina, presente apenas em

células endoteliais. Durante o rolamento, as quimiocinas ligadas aos seus receptores no endotélio, encontram e se ligam à membrana do leucócito, aumentando a afinidade de ligação da molécula de adesão integrina, expressa no leucócito, levando à ativação e adesão entre o leucócito e o endotélio. Na etapa de adesão, o leucócito rearranja seu citoesqueleto aumentando a área de superfície de ligação com o endotélio, aumentando o número de ligação com integrinas. Em seguida, ocorre a transmigração ou diapedese através do endotélio, mediada através da imunoglobulina CD31 (PECAM-1), onde ocorre a travessia através do endotélio. Após a transmigração total, o patógeno é fagocitado após sua localização (MESQUITA-JÚNOIR et al., 2008; KUMAR et al., 2013; CHANG et al., 2015; RIBEIRO et al., 2015) (Figura 1).

Figura 1. Migração leucocitária.



Fonte: Abbas et al., 2012.

1.1.3. Eicosanoides

Quando a membrana celular é agredida, a enzima fosfolipase A2 (PLA2) age sobre os fosfolípidios dessa membrana, liberando o ácido araquidônico (AA), este consistindo em um

ácido graxo de 20 carbonos, contendo quatro duplas ligações (HILÁRIO et al., 2006; MEVES, 2008; MONTENEGRO; FRANCO, 2008; GAO et al., 2010).

A metabolização do AA pode ocorrer por duas vias: através das cicloxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2) e através da lipoxigenase (LOX). No primeiro caso ocorre a formação de prostaglandinas (PGs), prostaciclina (PI) e tromboxanos (TXs). Já a via da lipoxigenase (LOX) que leva à produção de leucotrienos (LTs) e lipoxinas (LXs). Esses produtos finais do metabolismo do ácido araquidônico por estas duas vias enzimáticas são denominados de forma geral como eicosanoides (GILMAN et al., 2006; YEDGAR et al., 2007; KATZUNG, 2008; MONTENEGRO; FRANCO, 2008; KUMAR et al., 2013).

A COX-1 e a COX-2 são duas isoformas que apresentam funções específicas apesar de ambas participarem na formação dos eicosanoides (HILÁRIO et al., 2006; MARNETT, 2009). A COX-1 é constitutiva na maioria dos tecidos corpóreos, ou seja, ela é produzida constantemente para estabelecer a homeostase, atuando em atividades fisiológicas ou de manutenção, como na homeostasia vascular, citoproteção, agregação plaquetária, produção do muco gastrointestinal. Já a COX-2, geralmente é produzida após indução por um estímulo patológico como inflamação e câncer. As interleucinas 1 (IL-1), 2 (IL-2) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) estimulam a produção dessa isoforma, enquanto que os glicocorticoides, AINEs, e as citocinas IL-4, IL-10 e IL-14 inibem sua expressão (HILÁRIO et al., 2006; MARNETT, 2009).

Sabe-se que a cicloxigenase (COX) é uma enzima que sintetiza prostanóides, porém a formação final dos eicosanoides envolve a metabolização de vários precursores (BOTTING, 2006; KVATERNICK et al., 2007). Após a liberação do AA, sua metabolização pela via da COX leva a oxidação deste em prostaglandina G₂, que em seguida é reduzida a prostaglandina H₂ instável. Por fim, ocorre a conversão por isomerases, que transformam esses precursores em prostanóides, que são as prostaglandinas PGD₂, PGE₂, PGF₂ α , prostaciclina PGI₂ e tromboxanos TXA₂ e TXB₂ (KAWAHARA et al., 2015).

A função das prostaglandinas inclui citoproteção na mucosa gástrica, alteração no tônus e permeabilidade vascular, agregação plaquetária, angiogênese, ovulação, parturição, metabolismo ósseo, crescimento e desenvolvimento neuronal, cicatrização de feridas, manutenção da função renal e nas respostas imunes (KVATERNICK et al., 2007; RICCIOTTI; FITZGERALD, 2011). Seus efeitos pró-inflamatórios são aumento da permeabilidade das arteríolas, atuando em conjunto com a histamina e bradicinina nesse processo, facilitando por

consequente a migração de células e proteínas para o local lesionado e a sensibilização dos nociceptores (LEES, 2003).

O tromboxano A, apresenta meia-vida curta e é convertido no composto mais estável tromboxano B. É responsável por agregação e adesão plaquetária. A prostaciclina I (PGI) também é instável, sendo convertida em PGF₂ α (BOTTING, 2006). A ação da prostaciclina envolve efeitos sobre o sistema vascular, onde atua como vasodilatador e inibe a agregação plaquetária (KUMMER; COELHO, 2002; CLARK, 2006).

Como a COX-1 está envolvida nas funções de citoproteção gástrica por produção de muco devido às prostaglandinas e agregação plaquetária por formação do tromboxano A₂ nas plaquetas, fármacos que inibem essa isoforma consequentemente causam distúrbios no trato digestivo e aumentam os riscos de sangramento cutâneo e gastrintestinal, apresentados como efeitos adversos, ao passo que fármacos mais seletivos da isoforma COX-2 terão esses efeitos mais atenuados (HAZEWINKEL et al., 2008; STEAGALL et al., 2009). Porém deve-se enfatizar que não existe uma divisão precisa nas atividades das duas isoformas, pois, embora a COX-2 possua propriedades pró-inflamatórias, as duas isoformas estão presentes na resposta inflamatória total (CARVALHO et al., 2004; HILÁRIO et al., 2006).

A segunda via de metabolização do ácido araquidônico é realizada pela enzima Lipoxigenase (LOX), onde existem três subtipos dessa enzima: 5-Lipoxigenase (5-LOX), 12-Lipoxigenase (12- LOX) e 15-Lipoxigenase (15-LOX). Estas isoformas estão presentes em plaquetas, leucócitos e mastócitos. A principal LOX envolvida na função inflamatória é a 5-lipoxigenase (5-LOX), encontrada principalmente nos leucócitos. É ativada pela proteína 5-lipoxigenase (FLAP) formando um complexo enzimático ativo (GILMAN et al., 2006; KATZUNG, 2008).

O primeiro produto oriundo da metabolização do AA pela 5-LOX é o ácido 5-hidroperoxieicosatetraenoico (5-HPETE), possuindo ação quimiotática para leucócitos. Esse composto é transformado no leucotrieno A₄ (LTA₄) instável, que em seguida é convertido no leucotrieno B₄ (LTB₄) ou nos cisteinil-leucotrienos C₄, D₄ e E₄ (SHUREIQI; LIPPMAN, 2001; GILMAN et al., 2006; KATZUNG, 2008; RANG et al., 2012).

O LTB₄ exerce ação quimiotática sobre neutrófilos, estimula a agregação e aderência desses ao endotélio vascular, causa aumento da permeabilidade vascular, estimula a proliferação de macrófagos e linfócitos e a produção de citocinas por essas células, além de

induzir a geração de espécies reativas de oxigênio e a liberação de enzimas lisossômicas (GOODMAN et al., 2009).

Os cisteinil-leucotrienos C4, D4 e E4 causam vasoconstrição, broncoconstrição, aumento da permeabilidade vascular e extravasamento vascular restrito às vênulas (SHUREIQI; LIPPMAN, 2001). Já as lipoxinas LXA4 e LXB4 são oriundas da 15-LOX e possuem efeitos anti-inflamatórios, inibindo o recrutamento e aderência de neutrófilos (GODSON et al., 2000; MITCHELL et al., 2002; RYAN; GODSON, 2010).

1.1.4. Citocinas

Citocinas são polipeptídeos de baixo peso molecular, que agem como mediadores na resposta imune, além de estarem envolvidas em diferentes processos biológicos tais como processo inflamatório, proliferação celular, fibrose, migração leucocitária, reparação e angiogênese (VILČEK; FELDMANN, 2004; COTRAN et al., 2006; GONCHAROVA; TARAKANOV, 2007). São produzidas como resposta aos estímulos gerados por bactérias, vírus, parasitas ou são produzidas em resposta às outras citocinas, onde sua secreção é breve e a sua produção é induzida em diferentes tipos de células, como neutrófilos, linfócitos e macrófagos, além de células do endotélio e epitélio (COTRAN et al., 2006; GONCHAROVA; TARAKANOV, 2007; RANG et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2011). Muitos estudos pré-clínicos avaliam a capacidade de estimulação e inibição desses polipeptídios sobre a inflamação, imunidade e hematopoiese (ABBAS et al., 2012).

Diferentes citocinas podem partilhar uma mesma função, bem como a síntese de uma citocina pode ser influenciada por outra, levando à formação de cascatas de síntese. Duas citocinas podem ainda interagir entre si, gerando efeitos antagônicos ou sinérgicos (ABBAS et al., 2012).

As citocinas podem ser divididas em interleucinas (IL), quimiocinas, interferons (INF), fatores do crescimento e fatores de necrose tumoral (TNF) (COTRAN et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2011; RANG et al., 2012). Ao classificá-las de acordo com seu espectro de ação, elas podem ser diferenciadas como pró-inflamatórias, dentre elas a IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α e IFN- γ , que são ativadoras de macrófagos, células *Natural Killer* (NK), células T e células B e estimuladoras da proliferação de imunoglobulinas nas células B, contracenando com

outros mediadores na sinalização durante a inflamação; bem como anti-inflamatórias, IL-1Ra, IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β , que reduzem a resposta inflamatória por meio da diminuição de liberação e síntese de citocinas pró-inflamatórias e por supressão de monócitos (REMICK, 2003).

O TNF- α pertence à classe de mediadores da resposta imune inata, sendo o primeiro mediador inflamatório produzido frente a infecções (ULLOA; TRACEY, 2005). Quantidades excessivas e produção prolongada desse mediador induz a ativação de outras citocinas e a formação de radicais livres por oxidação celular, intensificando o processo inflamatório por um *feed back* positivo (TRACEY, 2002; NETEA et al., 2003; ULLOA; TRACEY, 2005). É produzido principalmente por macrófagos, onde sua interação com a célula alvo é mediada pelos receptores TNF tipo 1 (TNFR1) e TNF tipo 2 (TNFR2). A ativação celular pelo TNFR1 estimula a migração de neutrófilos, enquanto que a ativação do receptor TNFR2 medeia a apoptose por ativação de caspases e necrose (VERRI-JÚNIOR et al., 2006). Além disso essa citocina ativa os mastócitos, amplifica e prolonga a inflamação, além de estimular a fagocitose e destruir células tumorais ou infectadas por vírus (TIZARD, 2009).

Logo em seguida vem a síntese de IL-1 e IL-6 ainda no início do processo inflamatório. As citocinas IL-1 β e IL-6 estimulam a hematopoiese, atuando sinergicamente com outros fatores estimuladores de colônias da medula óssea. Também ativam a produção de anticorpos pelas células B e são reguladoras da função dessas células (ANDERSON; BLUMER, 1997).

A IL-1 β é uma citocina produzida por monócitos e macrófagos, que ativa células do sistema imune, além de controlar a expressão da maioria dos genes imunomodulatórios (BOWEI; O'NEILL, 2000). A IL-1 β age de forma similar ao TNF- α ao induzir a resposta inflamatória por *feed back* positivo, atuando sinergicamente com o fator de necrose tumoral, onde pode estimular o recrutamento de neutrófilos, sendo estimulada pela presença de endotoxinas bacterianas, vírus, fungos e antígenos parasitários (LOISA et al., 2003; CUNNEEN; CARTWRIGHT, 2004; DEL VECCHIO et al., 2004; DISTEFANO et al., 2004; COTRAN et al., 2006; RANG et al., 2012). A IL-6 é a principal indutora da síntese da proteína C-reativa (PCR) pelos hepatócitos, além de atrair neutrófilos aos sítios de infecção e ativar células T (CUNNEEN; CARTWRIGHT, 2004; PAVCNIK-ARNOL et al., 2004; VERRI-JÚNIOR et al., 2006). Também promove ativação do complemento, induz a produção de citocinas pró-inflamatórias, contribui para a regeneração de lesão neuronal além de possuir efeitos anti-inflamatórios e estimular a síntese do IL-1Ra, antagonista do receptor de IL-1 (LIN et al., 2000; VIANNA et al., 2011).

O INF- γ é uma citocina produzida primariamente por células T do tipo Th1, e pelas células *Natural Killer* (NK), estando presente tanto na resposta imune inata quanto na adaptativa. Induz a ativação de células endoteliais, atividade das células NK, síntese das moléculas do complexo principal de histocompatibilidade das classes I e II (MHC I e II), diferenciação de linfócitos B e ativação de linfócitos T e macrófagos (ABBAS et al., 2012). Existem três classes de interferons: INF- α , INF- β e INF- γ . Eles auxiliam na sinalização e são liberados por células cancerígenas ou infectadas por vírus (RANG et al., 2012). Logo o interferon- γ (INF- γ) é uma citocina pró-inflamatória que está relacionada com a ativação e proliferação celular (TONET; NÓBREGA, 2008; KARTAL et al., 2012; SILVA et al., 2012).

A interleucina 10 (IL-10), por sua vez, é anti-inflamatória ao inibir as outras citocinas pró-inflamatórias (TIZARD, 2009; OBERHOLZER et al., 2002). É produzida por células Th2 CD4+, células B, monócitos e macrófagos ativados (COUPER et al., 2008; CLARK et al., 2013). A IL-10 inibe a síntese de TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 e IL-12 pelos monócitos, enquanto estimulam a produção de antagonista do receptor de IL-1, o IL-1Ra (THOMPSON-SNIPES et al., 1991; HOWARD; O'GARRA, 1992; MOCELLIN et al., 2001). Bem como o contrário também se aplica, onde a supressão de IL-10 ocasiona aumento os níveis principalmente de TNF- α e IL-6 (CUNNEEN; CARTWRIGHT, 2004).

Deve-se também enfatizar a finalidade homeostática da IL-10, já que a presença de TNF- α e outras citocinas estimulam a sua síntese durante a inflamação, onde em seguida esta bloqueia a síntese de TNF- α , normalizando e equilibrando a concentração sérica de citocinas pelo mecanismo de *feed back* negativo (OBERHOLZER et al., 2002; BORISH; STEINKE, 2003). Outras citocinas anti-inflamatórias podem ser citadas como IL-4, IL-13, fator transformador de crescimento TGF- β e o antagonista de receptor IL-1 (IL-1Ra), que interferem na ação ou liberação das citocinas pró-inflamatórias (VERRI-JÚNIOR et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2011).

As quimiocinas são consideradas um grupo específico de citocinas com funções quimiotáticas, capazes de estimular o movimento leucocitário e a atração de outros mediadores para o local inflamado. São classificadas em quatro classes principais de acordo com a localização dos resíduos de cisteína nas proximidades dos seus terminais amino: (1) quimiocinas CXC ou α ; (2) quimiocinas CC ou β ; (3) quimiocinas C ou γ ; e (4) quimiocinas CX3C (COUSSENS; WERB, 2002; COTRAN et al., 2006; ROLLINS, 2006; GUERREIRO et al., 2011; RANG et al., 2012). Como exemplo tem-se a IL-8/CXCL8, pertencente à subfamília

de quimiocinas CXC e exerce predominantemente efeito quimioatrativo sobre neutrófilos (LIN et al., 2000; VIANNA et al., 2011).

1.1.5. Fator de Transcrição Nuclear Kappa B

O fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B) é uma proteína cuja função é induzir a transcrição de genes, incluindo genes para expressão de citocinas, COX-2, fatores de crescimento, enzimas como a iNOS, moléculas de adesão celular, onde um aumento na ativação desse fator de transcrição, intensifica a resposta inflamatória. A ativação do NF- κ B decorre por meio da degradação de moléculas inibidoras do NF- κ B e a subsequente liberação das subunidades p50-p65 do fator de transcrição que, em forma de dímero, migra do citoplasma para o núcleo, onde irá exercer sua função de estimulação da expressão gênica (TAK; FIRESTEIN, 2001; FRANCO, 2010).

1.1.6. Aminas

As aminas vasoativas, histamina e serotonina, são um dos primeiros mediadores a serem liberados durante a resposta inflamatória. Promovem dilatação e aumento da permeabilidade dos vasos (RANG et al., 2012). Dessa forma estão relacionadas com a formação do edema e rubor (KUMAR et al., 2005; KAWAHARA et al., 2015).

A histamina é amplamente distribuída nos tecidos e é o principal mediador da resposta inflamatória aguda e das reações alérgicas, sendo produzida e armazenada principalmente nos mastócitos e basófilos. A histamina presente nos mastócitos é liberada por degranulação dessas células, em resposta aos estímulos como: lesão tecidual, reações imunes, neuropeptídeos, citocinas e subunidades do sistema complemento como as anafilatoxinas (COTRAN et al., 2006; RANG et al., 2012).

A histamina pode ligar-se aos seguintes receptores: H1, por onde exerce suas ações pró-inflamatórias de vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular; receptor H2, que medeia as atividades imunossupressoras; receptor H3 regula a liberação de citocinas em macrófagos e mastócitos e o receptor H4 que está relacionado com a liberação de neutrófilos da medula óssea

e com o processo de transmigração (IDZKO et al., 2002; TAKESHITA et al., 2004; JUTEL et al., 2009).

A serotonina (5-HT) está presente nas plaquetas, mastócitos, monócitos e células enterocromafins. Promove permeabilidade vascular e vasoconstricção inicial, com posterior vasodilatação dependente de óxido nítrico (KUMAR et al., 2005; JUTEL et al., 2009). Sua liberação é estimulada quando as plaquetas se agregam e durante reações mediadas por IgE, resultando em aumento da permeabilidade durante reações imunológicas (COTRAN et al., 2006; KATZUNG, 2008; JUTEL et al., 2009; RANG et al., 2012).

1.1.7. Cininas

Outro grupo de mediadores que participam do processo inflamatório são as cininas, destacando-se a bradicinina. Esta promove vasodilatação, aumento da permeabilidade, assim como as aminas vasoativas, além de atuar na contração da musculatura lisa e ativação das vias nociceptivas, promovendo a dor no processo inflamatório. Possui curta duração de ação devido sua rápida degradação pela cininases (MONTENEGRO; FRANCO, 2008).

1.1.8. Óxido Nítrico

O óxido nítrico é uma importante molécula sinalizadora e um potente vasodilatador na inflamação, mas que também regula diversos mecanismos fisiopatológicos. Sua ação tanto pode ser constitutiva e necessária para homeostase do organismo, como pode ser convertido a radical de oxigênio causando danos às células (ALDERTON et al., 2001; AKTAN, 2004). Isso ocorre quando encontra-se em altas concentrações podendo ser oxidado e convertido em espécies reativas de oxigênio (ROS) como o peroxinitrito (RANG et al., 2012; MORAES et al., 2014). Seus efeitos vasodilatadores no endotélio decorrem da ativação guanilil-ciclase, gerando GMPc (MATTILA; THOMAS, 2014; MORAES et al., 2014).

É sintetizado pela enzima óxido nítrico-sintase (NOS), que catalisa a conversão da L-arginina em L-citrulina e óxido nítrico (NO). As isoformas dessa enzima são iNOS nNOS e eNOS (KUMAR et al., 2005; MEDZHITOV, 2008; RANG et al., 2012).

A iNOS é a forma induzível por expressão celular, em resposta aos estímulos patológicos ou citocinas, ou seja é a isoforma envolvida na inflamação. As outras isoformas atuam na homeostase. A NOS neuronal (nNOS) é expressa em neurônios e a eNOS, ou isoforma endotelial, gera o óxido nítrico no endotélio (MATTILA; THOMAS, 2014; MORAES et al., 2014).

1.1.9. Plantas Medicinais na Inflamação

O uso de plantas medicinais ocorre desde épocas remotas e o conhecimento sobre o potencial terapêutico destas plantas vem sendo acumulado e passado através das gerações de vários grupos étnicos (MACIEL et al., 2002). A prática do uso de plantas medicinais surgiu com o intuito de curar e tratar diversas patologias, sendo utilizadas até o presente momento, em diversas culturas, de forma exclusiva ou alternativa para complementar o efeito de fármacos sintéticos, onde estes fármacos inclusive são muitas vezes derivados de produtos naturais (CALIXTO, 2005; VEIGA-JUNIOR; MELLO, 2008).

O Brasil é um país rico em sua biodiversidade, possuindo numerosas espécies vegetais produtoras de substâncias bioativas, distribuídas entre os cinco principais biomas, como Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Caatinga, Pantanal e Cerrado aumentando assim o espectro e variedade de espécies bem como suas aplicações na medicina tradicional (VEIGA-JUNIOR; MELLO, 2008).

O uso de plantas medicinais é comum em diversas comunidades devido à crença de que estas não possuem efeitos colaterais, ou que possuem baixa toxicidade e são de fácil acesso (VEIGA-JUNIOR et al., 2005). Logo, a busca constante da população por essas plantas serviu de base para incentivar o desenvolvimento de pesquisas visando elucidar tais questões.

A escolha de uma espécie vegetal para estudo farmacológico pode ser feita com base em análises de estudos etnobotânicos anteriormente realizados, que relatam o uso tradicional na medicina popular da referida espécie, para a posterior realização de estudos que permitem o desenvolvimento de fitoterápicos a partir de plantas com propriedades terapêuticas (RATES, 2001; ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006).

Diversos produtos naturais são utilizados na medicina popular como agentes anti-inflamatórios, bem como pesquisas vem sendo desenvolvidas com o intuito de elucidar essa

atividade biológica de tais espécies vegetais e de seus constituintes (VEIGA-JUNIOR et al., 2005). Porém, apesar dos trabalhos já desenvolvidos, o potencial de plantas medicinais ainda encontra-se escassamente explorado, tendo em vista a grande quantidade de espécies vegetais e constituintes que ainda não foram investigados quanto ao seu potencial anti-inflamatório e como fonte de novos fármacos (CALIXTO, 2000; RATES, 2001; VEIGA-JUNIOR; MELLO, 2008).

1.1.10. Gênero *Croton* e espécie *Croton campestris* A. St.-Hil

O gênero *Croton* foi proposto por Linnaeus em 1753, é o segundo maior gênero da família Euphorbiaceae apresentando cerca de 1300 espécies, distribuídas predominantemente sobre a região tropical (SALATINO et al., 2007; SILVA et al., 2009). Pertence a subfamília Crotonoideae e tribo Crotonaeae. O Brasil é o país com maior diversidade no gênero (BERRY et al., 2005).

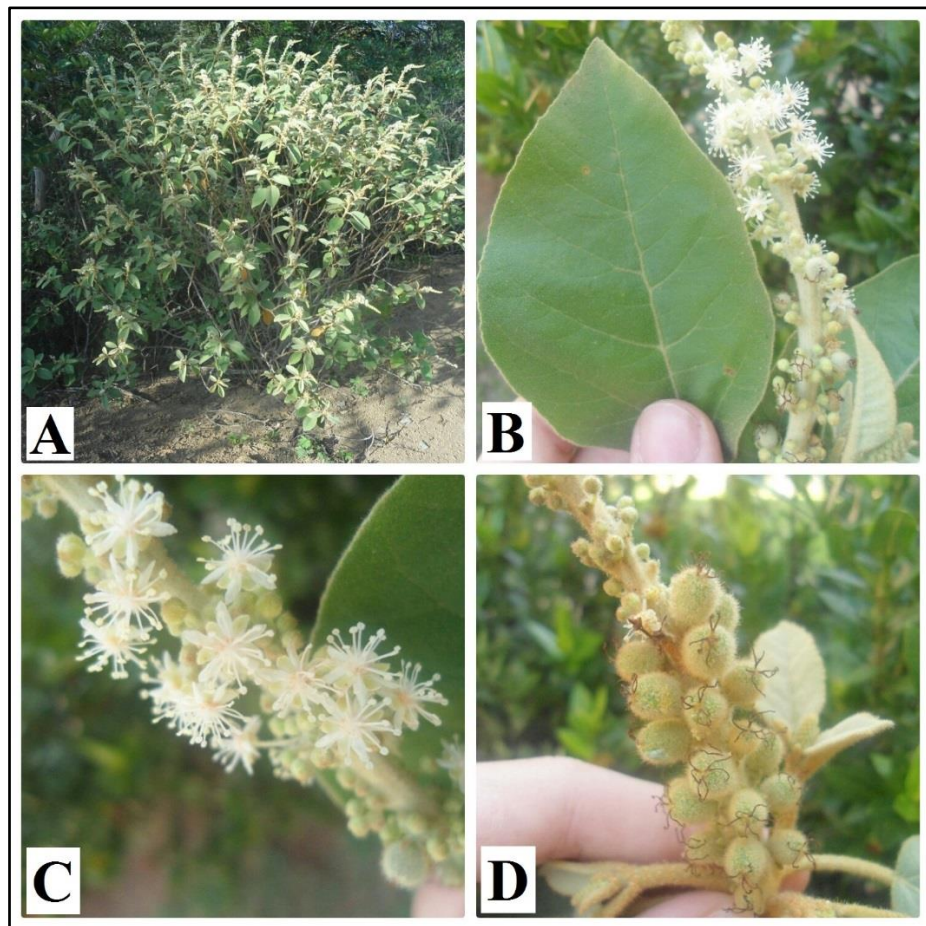
As espécies do gênero *Croton* geralmente são ervas ou arbustos, com inflorescências de pequenas pétalas brancas (GUIMARÃES, 2006; SILVA et al., 2010). Geralmente são produtoras de látex em seu caule, além de exibir revestimento piloso em seus caules e suas folhas, onde estas se tornam alaranjadas a medida que envelhecem (RIINA et al., 2009; SILVA et al., 2009).

As espécies desse gênero são conhecidas popularmente como “velames” e “marmeleiros”, além de apresentarem óleos essenciais nas suas folhas (SALATINO et al., 2007). O interesse no estudo dessa espécie é despertado pelo seu alto valor na medicina popular e sua diversidade de uso, como fonte de compostos bioativos e de atividades biológicas já comprovadas (DOURADO; SILVEIRA, 2005).

Dentre as espécies pertencentes a este gênero, que possuem atividade anti-inflamatória já comprovada destacam-se: *Croton urucurana* (CORDEIRO et al., 2016), *C. cajucara* (BIGHETTI et al., 1999; PERAZZO et al., 2007), *C. pullei* (ROCHA et al., 2008), *C. sonderianus* (SANTOS et al., 2005), *C. celtidifolius* (NARDI et al., 2003), *C. malambo* (SUÁREZ et al., 2003), *C. cuneatus* (SUÁREZ et al., 2006), *C. zehntneri* (VALER et al., 2016), *C. argyrophyllus* (RAMOS et al., 2013) e *C. crassifolius* (ZHAO et al., 2012).

A espécie *Croton campestris* A. St.-Hil, popularmente conhecida como “velame-do-campo”, “velame-branco”, “velame-verdadeiro”, “campi-xingui”, “capimcigui”, “curraleira” e “canela-de-urubu” (DANTAS, 2007), é um arbusto originário do Brasil, ocorrendo principalmente nas regiões Sudeste e Nordeste do Brasil (CORRÊA, 1975) (Figura 2).

Figura 2. *Croton campestris* A. St.-Hil



A - arbusto; B – folhas; C – flores; D – frutos. Fonte: Oliveira-Tintino, CDM (autora)

É utilizada na medicina popular para dores em geral, gripe, prisão de ventre, bronquite, pneumonia, asma, derrame, problemas oculares, ferida na boca (COSTA-NETO; OLIVEIRA, 2000; FRANCO; BARROS, 2006; BORGES; BAUTISTA, 2010; OLIVEIRA-JÚNIOR; CONCEIÇÃO, 2010; SILVA et al., 2012; CHAVES; BARROS, 2012). Congestão nasal, bronquite, aflições na garganta, problemas intestinais, reumatismo, hemorroidas, depurativo, artrite, doenças venéreas (ALBUQUERQUE et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2007). Distúrbios

hematológicos, inflamação, dermatoses, ferimentos, alergias, febre, infecção, sinusite, distúrbios renais, cefaleia, gastrite, limpeza ocular, purgativo, tratamento da sífilis e picadas de cobra (BRANDÃO et al., 2012; BRITO-JÚNIOR et al., 2015).

Estudos prévios revelam a composição química e comprovam diversas atividades biológicas do óleo essencial e de extratos obtidos do *Croton campestris*. Como exemplo, foi avaliada a composição química do óleo essencial de *Croton campestris*, apresentando como constituintes o óxido de cariofileno (29,9%), β -cariofileno (17,0%) e biciclogermacreno (16,2%) no óleo essencial das folhas; e β -cariofileno (11,3%) e espatulenol (14,7%) no óleo essencial dos ramos (EL BABILI et al., 2009; ALMEIDA et al., 2013).

Foi comprovado que o óleo essencial dos ramos de *C. campestris* potencializou a atividade de antibióticos produzindo um efeito sinérgico sobre a ação de aminoglicosídeos contra *Staphylococcus aureus* (ALMEIDA et al., 2013). Diversos extratos obtidos das folhas do *C. campestris* também foram analisados quanto ao efeito potencializador de antimicrobianos, destacando-se o extrato hexânico e metanólico contra cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (COUTINHO et al., 2011; MATIAS et al., 2011); o extrato hidroalcoólico contra bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (BRITO-JÚNIOR et al., 2011); as frações metanólica e de acetato de etila, obtidos a partir do extrato etanólico de *Croton campestris*, frente as cepas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (LAVOR et al., 2014).

Em estudos anteriores o óleo essencial das folhas de *C. campestris* apresentou atividade antimicrobiana direta contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus hirae* e *Candida albicans* (EL BABILI et al., 2009; EL BABILI et al., 2012). Extratos obtidos das folhas desta espécie também revelaram efeito antibacteriano, como o extrato metanólico, apresentando ação contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (MATIAS et al., 2010a); e os extratos metanólicos e hexânicos apresentando efeito antibacteriano frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (MATIAS et al., 2010b).

Foi comprovado que o extrato hidroalcoólico obtido da casca de raízes e obtido das folhas de *C. campestris*, demonstrou ação gastroprotetora, cujo mecanismo de ação envolve a estimulação da síntese e liberação de prostaglandina e óxido nítrico (BRITO-JÚNIOR et al., 2013; BRITO-JÚNIOR et al., 2014).

1.1.11. β -cariofileno (C₁₅H₂₄)

Diversas substâncias orgânicas fazem parte da composição química de vegetais, podendo ser identificadas em seus óleos essenciais ou extratos vegetais. Essas substâncias possuem a finalidade de assegurar a sobrevivência e adaptação da espécie ao ambiente. Os metabólitos secundários fazem parte do grupo desses compostos, apresentando diversas funções, dentre elas, efeito anti-herbivoria, ação antimicrobiana para proteção contra patógenos, efeitos antigerminativos para inibir o crescimento de plantas competidoras e efeito atrativo de polinizadores (CROTEAU et al., 2000; FUMAGALI et al., 2008).

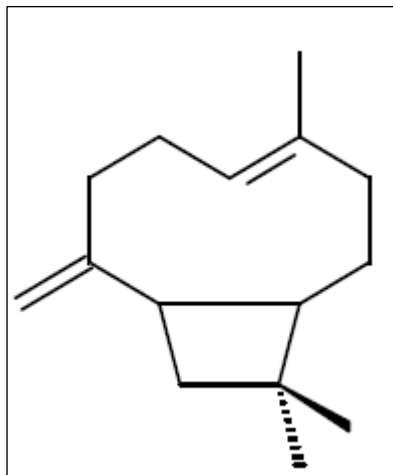
Existem três grupos de metabólitos secundários sendo eles os compostos terpênicos, fenólicos e alcaloides. Os terpenos são caracterizados por possuírem moléculas de isopreno em sua constituição e são classificados de acordo com o número dessas unidades isoprênicas. Os sesquiterpenos apresentam três moléculas isoprênicas e abrange um grande número de compostos ativos com funções biológicas diversas (HARBORNE et al., 1991; HARREWIJN et al., 2001; FUMAGALI et al., 2008).

Como exemplo, destaca-se o β -cariofileno, um sesquiterpeno bicíclico e metabólito secundário produzido por muitas plantas (ROBLES et al., 1995; DI SOTTO et al., 2010) (Figura 3). Pode ser encontrado sob a forma dos isômeros (Z)-cariofileno, (Z)- β -cariofileno ou isocariofileno, ou sob a forma oxidada de óxido de cariofileno (GERTSCH et al., 2008). É um componente volátil encontrado em diversos óleos essenciais de muitos temperos e alimentos, como o orégano (*Origanum vulgare* L.), a canela (*Cinnamomum* Spp.) e a pimenta preta (*Piper nigrum* L.) (JAYAPRAKASHA et al., 2003; ORAV et al., 2004).

Diversas atividades biológicas foram atribuídas a este sesquiterpeno, destacando-se a ação antibacteriana e antifúngica contra cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e contra *Candida albicans* (GOREN et al., 2011), ação antiviral (DUNKIĆ et al., 2011), antitérmica (CHENG et al., 2004), atividade anti-cancerígena, representada por ação citotóxica contra células tumorais e por inibir a atividade das células *Natural Killer* de tumores (SILVA et al., 2007), como potencializador da atividade anti-cancerígena de α -humuleno, isocariofileno e paclitaxel contra linhagens tumorais (LEGAULT et al., 2013), atividade antiproliferativa no adenocarcinoma renal e no melanoma amelanótico (LOIZZO et al., 2008), anti-mutagênica (DI SOTTO et al., 2010) e ação anestésica local (GHELARDINI et al., 2001).

Dentre as pesquisas que envolvem a atividade anti-inflamatória, destacam-se os estudos *in vitro* que comprovaram que o β -cariofileno liga-se ao receptor canabinóide tipo 2 (CB₂), inibindo vias pró-inflamatorias, levando a atenuação da expressão de IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α (GERTSCH et al., 2008). Também foi capaz de reduzir os níveis de TNF- α , PGE₂, INOs e COX-2, além de reduzir o edema de pata induzido por carragenina, fator ativador plaquetário e bradicinina (FERNANDES et al., 2007; PASSOS et al., 2007; DAHHAM et al., 2015), redução da inflamação no modelo de colite induzida por dextrana (CHO et al., 2007), como antiartrítico (VIJAYALAXMI et al., 2015) e como supressor da síntese de óxido nítrico por macrófagos estimulados por LPS (TUNG et al., 2008).

Figura 3. Representação da estrutura química do β -cariofileno.



Fonte: Leandro et al., 2012.

Perante as informações anteriormente citadas e relacionando-as à alta prevalência de doenças inflamatórias e ao crescente interesse da indústria farmacêutica na descoberta de novas drogas, fica demonstrada a relevância quanto à busca por se conhecer o potencial anti-inflamatório da espécie *Croton campestris*, e seu constituinte β -cariofileno, podendo assim descobrir nesta espécie tão importante na cultura popular de moradores da região, um poderoso aliado ao desenvolvimento de novas terapias e ao mesmo tempo, salientar a importância de sua conservação. No mais, o estudo não apenas do óleo essencial, mas também de seu constituinte, representa uma peça chave para um esclarecimento de maior propriedade na elucidação de seus mecanismos de ação, permitindo esclarecer através de quais componentes se dá seu efeito.

Além disso, torna-se necessária a busca por substâncias naturais que, além auxiliar na produção de novos fármacos, também apresentem efeitos adversos reduzidos, além de que estudos conduzidos sobre o potencial de tais plantas medicinais, possibilitam no esclarecimento e comprovação de sua eficácia na medicina popular.

Por fim, tendo em vista os estudos etnobotânicos que relatam o emprego do *C. campestris* em diversas processos patológicos da inflamação e em detrimento dos escassos estudos sobre os efeitos desta espécie vegetal e do β -cariofileno na inflamação, o presente estudo torna-se uma pesquisa de cunho singular ao avaliar a atividade dessas substâncias.

2.1 GERAL

Verificar a ação anti-inflamatória do óleo essencial das folhas de *Croton campestris* A. St.-Hil (OECC) e do constituinte β -cariofileno.

2.2 ESPECÍFICOS

- Analisar a composição química do óleo essencial das folhas de *Croton campestris*;
- Verificar a toxicidade aguda no tratamento oral com OECC;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória tópica do OECC e do constituinte β -cariofileno;
- Verificar a atividade anti-inflamatória sistêmica do OECC e do β -cariofileno, através de ensaios de triagem farmacológica;
- Comparar os efeitos do OECC e do β -cariofileno, em ensaios de inflamação aguda e crônica;
- Investigar possíveis mecanismos de ação anti-inflamatória envolvidos na ação do óleo essencial e do β -cariofileno;
- Investigar o envolvimento do β -cariofileno no efeito observado pelo OECC;
- Avaliar a existência de uma possível influência do OECC na atividade comportamental ou motora do OECC, que possam interferir nos resultados dos ensaios anti-inflamatórios avaliados por parâmetros comportamentais.

3. RESULTADOS

ARTIGO:

**AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton campestris* A. ST.-
HIL (EUPHORBIACEAE) E DO COMPOSTO β -CARIOFILENO EM MODELOS *IN*
*VIVO***

Ação anti-inflamatória do óleo essencial de *Croton campestris* A. St.-Hil (Euphorbiaceae) e do composto β -cariofileno, em modelos *in vivo*

Resumo

Caracteriza-se como uma resposta inflamatória, um conjunto de reações do tecido vascularizado em defesa do organismo contra estímulos nocivos. A espécie *Croton campestris* A. St.-Hil pertence à família Euphorbiaceae e tem como um de seus constituintes, o sesquiterpeno β -cariofileno. O presente estudo analisa a composição química do óleo essencial das folhas frescas de *Croton campestris* (OECC), bem como avalia o potencial anti-inflamatório do OECC e do seu constituinte o β -cariofileno, em diferentes modelos experimentais *in vivo* de inflamação aguda e crônica, identificando seus possíveis mecanismos de ação. A avaliação da composição química do óleo essencial revelou a presença de β -cariofileno (15,91%), 1,8-cineol (16,98%) e germacreno-D (14,51%) como constituintes principais. O OECC não apresentou toxicidade na administração oral. As substâncias testadas apresentaram resultados positivos mostrando ação anti-inflamatória nos modelos de contorções abdominais, teste da formalina, edema de pata por carragenina, dextrana, histamina, ácido araquidônico, peritonite e permeabilidade. Apenas no ensaio de granuloma o β -cariofileno não mostrou-se eficaz. O OECC e o β -cariofileno, mostaram-se como potentes agentes anti-inflamatórios.

Palavras-Chave: β -cariofileno, *Croton campestris*, Inflamação, camundongos.

1. INTRODUÇÃO

A inflamação caracteriza um conjunto de reações do tecido vascularizado em defesa do organismo contra estímulos nocivos endógenos ou exógenos, sendo reconhecida pelos sinais cardinais de edema, dor, vermelhidão da pele, aumento da temperatura no local inflamado, e, em alguns casos, perda da função do órgão ou tecido acometido. É acompanhada de diversos eventos vasculares e celulares como, vasodilatação, acúmulo de leucócitos e fluido intersticial, sensibilização dos terminais nociceptivos, síntese e liberação de mediadores como aminas vasoativas, cininas, óxido nítrico e citocinas como o fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucinas (ILs) como a IL-1 β e IL-6 (MEDZHITOV, 2010; KUMAR et al., 2013; SILVEIRA E SÁ et al., 2014).

Buscando solucionar doenças inflamatórias através de um tratamento de fácil acesso, baixo custo e que apresente poucos efeitos adversos, o uso de plantas medicinais torna-se uma prática comum em diversas comunidades, de forma que a busca constante da população por essas plantas serviu de base para incentivar o desenvolvimento de pesquisas que visam comprovar o real efeito de tais espécies (VEIGA-JUNIOR et al., 2005).

O Brasil é um país rico em sua biodiversidade, possuindo numerosas espécies vegetais produtoras de substâncias bioativas, distribuídas entre os cinco principais biomas, como Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Caatinga, Pantanal e Cerrado, aumentando assim o espectro e variedade de espécies bem como suas aplicações na medicina tradicional (VEIGA-JUNIOR; MELLO, 2008).

Essas espécies vegetais com propriedades bioativas estão distribuídas entre as mais diversas famílias, destacando-se a família Euphorbiaceae, que apresenta um espectro de distribuição nas regiões tropicais e subtropicais, considerada uma das maiores e mais complexas famílias das Angiospermas, compreendendo cerca de 6.300 espécies agrupadas em 245 gêneros (WEBSTER et al., 1994; GOVAERTS et al., 2000). Dentre estes encontra-se o gênero *Croton*, cujas espécies, em sua maioria, são caracterizadas por apresentarem látex em seu caule, sendo conhecidas popularmente como “velames” e “marmeleiros” e a utilização destas é bastante empregada na medicina popular (SALATINO et al., 2007; RIINA et al., 2009).

A espécie *Croton campestris* A. St.-Hil, popularmente conhecida como “velame-do-campo”, capimcigui, curraleira, velame-verdadeiro, canela-de-urubu e velame-branco, é um

arbusto originário do Brasil, ocorrendo principalmente nas regiões Sudeste e Nordeste (CORRÊA, 1975; DANTAS, 2007).

Estudos etnofarmacológicos apontam seu uso na medicina popular para dores em geral, gripe, prisão de ventre, bronquite, pneumonia, asma, derrame, problemas oculares e ferida na boca (COSTA-NETO; OLIVEIRA, 2000; FRANCO; BARROS, 2006; BORGES; BAUTISTA, 2010; OLIVEIRA-JÚNIOR; CONCEIÇÃO, 2010; CHAVES; BARROS, 2012; SILVA et al., 2012a). Congestão nasal, bronquite, aflições da garganta, problemas intestinais, reumatismo, hemorroidas, artrite, doenças venéreas e como depurativo (ALBUQUERQUE et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2007). Distúrbios hematológicos, inflamação, dermatoses, ferimentos, alergias, febre, infecção, sinusite, distúrbios renais, cefaleia, gastrite, limpeza ocular, purgativo, tratamento da sífilis e picadas de cobra (BRANDÃO et al., 2012; BRITO-JÚNIOR et al., 2015).

Dentre as atividades biológicas comprovadas da espécie *Croton campestris*, destacam-se as ações antimicrobiana (MATIAS et al., 2010a; MATIAS et al., 2010b; EL BABILI, 2009; 2012), ação moduladora de antibióticos (BRITO-JÚNIOR et al., 2011; COUTINHO et al., 2011; MATIAS et al., 2011; ALMEIDA et al., 2013; LAVOR et al., 2014), antiulcerogênica (BRITO-JÚNIOR et al., 2013 e 2014) e atividade moluscicida (EL BABILI et al., 2006).

Estudos comprovam que a composição química do óleo essencial do *Croton campestris* apresenta majoritariamente o composto β -cariofileno (17%) (ALMEIDA et al., 2013). Várias atividades biológicas foram atribuídas a este sesquiterpeno, dentre elas destaca-se a atividade anti-inflamatória (CHO et al., 2007; Fernandes et al., 2007), antiviral (DUNKIĆ et al., 2011), antibacteriana (GOREN et al., 2011), anticancerígena (LOIZZO et al., 2008; LEGAULT et al., 2013), anti-mutagênica (DI SOTTO et al., 2010), anestésica local (GHELARDINI et al., 2001), antiartrítica (VIJAYALAXMI et al., 2015). Além disso, mostrou-se como potente inibidor da síntese de óxido nítrico (TUNG et al., 2008), da expressão de IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α (GERTSCH et al., 2008) e dos níveis de TNF- α , PGE₂, INOs e COX-2 (FERNANDES et al., 2007; DAHHAM et al., 2015).

O emprego de fármacos anti-inflamatórios consiste em um meio cada vez mais eficaz na prevenção e tratamento do processo inflamatório, onde óleos essenciais e seus constituintes isolados provenientes de plantas medicinais são amplamente empregadas para solucionar condições inflamatórias (SILVEIRA E SÁ et al., 2014). Dessa forma, pretende-se com o presente trabalho, avaliar a ação anti-inflamatória e seus possíveis mecanismos de ação do óleo

essencial extraído das folhas de *Croton campestris* A. St. Hil. (OECC) e seu constituinte β -cariofileno, através de modelos *in vivo*.

2. METODOLOGIA

2.1 Exigências Legais para realização da pesquisa

Para a realização desta pesquisa, foi realizado o cadastro na plataforma do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) para obtenção da licença para coleta do material botânico, com obtenção do registro de número 47584-1. Para a realização dos ensaios *in vivo*, os protocolos experimentais dos foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade Regional do Cariri, sendo aprovado sob o número de protocolo 232/2016.1.

2.2 Material Botânico e Extração do óleo essencial de *Croton campestris* e obtenção do β -cariofileno

As folhas de *Croton campestris* foram coletadas no período matutino na Chapada do Araripe, Cariri cearense, sob as coordenadas 7°21'45,9''S e 039°28'36,8''O. Uma amostra da exsicata foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL), sob número 12.065. As folhas frescas foram imersas em água destilada, em balão de fundo redondo e o óleo extraído através da técnica de arraste a vapor, pelo sistema Clevenger (SANTOS et al., 2004), obtendo-se um rendimento de 0,021%. O β -cariofileno foi adquirido pela Sigma-Aldrich Corporation.

2.3 Análise da composição química por CG-MS

A identificação da composição química do óleo essencial foi feita através de cromatografia gasosa. A análise foi realizada no equipamento Shimadzu GC-17A/MS QP5050A (sistema GC/MS): coluna capilar DB-5HT (30 m x 0,251 mm, espessura de película de 0,1 μ m); Gás transportador: helio 1,0 mL/min; Pressão de entrada da coluna 56,7 kPa; Fluxo de coluna = 1,0 mL/min; Velocidade linear = 36,5 cm/seg; Fluxo total 32 mL/min; Temperatura do injector 260 °C; Temperatura do detector 270 °C; Temperatura da coluna 60 (2 min) - 180

°C (4 min) a 4 °C/min, em seguida 180 - 260 °C a 10 °C/min (10 min). Condições de operação do espectrômetro de massa 70 eV energia de ionização. A identificação de componentes individuais baseou-se na sua fragmentação espectral de massa usando duas pesquisas de MS da biblioteca de computadores (wiley 229), índices de retenção e comparação com dados da literatura (ALENCAR et al., 1990; ADAMS, 2007).

2.4 Drogas

Para os controles positivos foram usadas as drogas indometacina, dexametasona, prometazina, morfina e diazepam. Como agentes flogísticos foram usados o óleo de cróton, ácido acético, formalina, carragenina, dextrana, histamina e ácido araquidônico. Para o controle negativo foi utilizada salina 0,9% e como veículos, foram usados água destilada e acetona. Todas as drogas e reagentes foram adquiridas pelas Sigma Aldrich Coporation. As administrações de pré-tratamento foram realizadas de acordo com a massa corpórea do animal (0,1 mL/10g).

2.5 Animais

Foram utilizados camundongos *Mus musculus*, albinos, da linhagem Swiss, pesando entre 20-30g. Todos acondicionados em caixas de polipropileno, específicas para biotério, a uma temperatura de 24 ± 1 °C, com ração (Labina, Purina®) e água *ad libitum*, mantidos em ciclo claro/escuro de 12h. Todos os testes foram realizados com um número de 6 camundongos por grupo, aclimatizados no local do experimento por 24 h antes da realização do mesmo.

2.6 Teste de toxicidade oral aguda em camundongos

Os camundongos foram tratados por via oral com óleo essencial de *Croton campestris* na dose de 5000 mg/Kg. Em seguida foram observados os primeiros 30, 60, 120, 240 e 360 min e a cada 24 h durante 14 dias após o tratamento, observando-se o número de mortes e ocorrência de parâmetros presentes na tabela de Malone (MALONE; ROBICHAUD, 1962).

2.7 Triagem Farmacológica da ação anti-inflamatória

2.7.1 Edema de orelha induzido pela aplicação única e múltipla de óleo de cróton

Os camundongos foram pré-tratados topicamente com 20 µL na orelha direita de acordo com os grupos salina 0,9%, dexametasona 40 mg/Kg e OECC 25, 50, 100 e 200 mg/Kg, sendo o veículo, administrado na orelha esquerda. No edema agudo, 1 h após o tratamento foi realizada a indução do edema com 20 µL de óleo de cróton a 5% na orelha direita, e o veículo acetona, administrado na orelha esquerda. Decorridas 4 h, os animais foram eutanasiados, retirados com *punch* metálico discos de 6 mm das orelhas e verificada sua massa em balança analítica (DE YOUNG et al., 1989; LAPA, 2007). O edema crônico teve duração de nove dias. As orelhas tiveram mensurações diárias com uso de paquímetro digital. A indução ocorreu diariamente a partir do primeiro dia de experimento, e o tratamento ocorreu em dias alternados a partir do quinto dia de experimento se estendendo até o nono dia, quando os animais foram eutanasiados e retirados os discos auriculares (STANLEY et al., 1991).

2.7.2 Contorções abdominais induzidas por ácido acético

Os animais foram pré-tratados (v.o.) com salina 0,9%, indometacina 10 mg/Kg, OECC 25, 50, 100 e 200 mg/Kg e 4,97, 9,94, 19,88, 39,76 mg/Kg do composto β-cariofileno, sendo que 1 h após o tratamento foi administrado ácido acético 0,6% (i.p.). Logo após a indução, foi contabilizado por 30 min, o número de contorções abdominais, caracterizadas por rotação do abdome e estiramento total das patas traseiras (LAPA, 2007).

2.7.3 Teste de formalina

Os animais foram pré-tratados com salina 0,9%, indometacina 10 mg/Kg, morfina 5 mg/Kg (i.p.), OECC 25, 50, 100 e 200 mg/Kg e 4,97, 9,94, 19,88, 39,76 mg/Kg de β-cariofileno. Após 30 min (para a Morfina) ou 1 h (para os demais grupos) a formalina 2,5% foi injetada na pata posterior direita. Em seguida foi cronometrado o tempo de lambadura da pata durante o período 0-5 min após a administração de formalina, que corresponde a Fase 1 ou fase neurogênica, e cronometrado o tempo de 25-45 min, que corresponde a Fase 2, ou inflamatória (WOOLFE; MACDONALD, 1944; FASMER et al., 1985; HUNSKAAR; HOLE, 1987; SPINDOLA et al., 2012).

2.7.4 Edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de carragenina ou dextrana

Os animais tiveram uma mensuração basal do volume das patas traseiras, medidas por pletismometria. Logo em seguida, os animais foram pré-tratados, por via oral, com salina 0,9%, indometacina 10 mg/Kg (controle positivo no edema induzido por carragenina), prometazina 6 mg/Kg (controle positivo do edema induzido por dextrana) e 25, 50, 100 e 200 mg/Kg do OECC, e as doses de 4,97, 9,94, 19,88, 39,76 mg/Kg de β -cariofileno. Após 1h, os animais receberam carragenina 1% ou dextrana 1% (20 μ L/pata) na pata posterior direita e veículo na pata esquerda. O volume das patas traseiras de cada animal foi registrado após 1, 2, 3 e 4 h da injeção do agente flogístico (LAPA, 2007).

2.8 Mecanismos da atividade anti-inflamatória

2.8.1 Edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de ácido araquidônico ou histamina

Foi feita a mensuração do volume basal das patas traseiras de cada camundongo, por pletismometria. Logo em seguida, os animais foram pré-tratados (v.o.) com salina 0,9%, indometacina 10 mg/Kg (controle positivo para o ácido araquidônico), ou prometazina 6 mg/Kg (controle positivo para histamina) e 25, 50, 100 e 200 mg/Kg do OECC, e as doses de 4,97, 9,94, 19,88, 39,76 mg/Kg de β -cariofileno. Após 1h, os animais receberam ácido araquidônico 1% ou histamina 1% na pata posterior direita (20 μ L/pata) e veículo na pata esquerda. O volume das patas traseiras foi mensurado em 15, 30, 45 e 60 min após a injeção do ácido araquidônico 1% (DIMARTINO, et al., 1987). No ensaio com histamina, o volume das patas traseiras de cada animal foi registrado após 30, 60, 90 e 120 min da injeção do agente flogístico (MALING et al., 1974).

2.8.2 Peritonite

Os camundongos foram tratados (v.o.) com solução salina 0,9%, dexametasona 5 mg/Kg, com 25, 50, 100 e 200 mg/Kg do OECC, e doses correspondentes de 4,97, 9,94, 19,88, 39,76 mg/Kg de β -cariofileno e o grupo naive, que não recebeu nenhum tratamento nem indução. Após 1 h do tratamento, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de carragenina 1%. Após 4 h, os animais foram eutanasiados, sendo injetada na cavidade peritoneal

3 mL de PBS heparinizado. A amostra do lavado peritoneal foi lida no ABX Micros 60 onde o número de leucócitos foi contabilizado e expresso em porcentagem (LAPA, 2007).

2.8.3 Permeabilidade vascular induzida por extravasamento de Azul de Evans

Os camundongos receberam o mesmo tratamento citado no item 2.8.2. Após 1 h do tratamento, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de carragenina 1%. Concomitantemente à carragenina, foi administrado 200 µL de Azul de Evans no plexo retro-orbital. Após 4 h, os animais foram eutanasiados sendo injetada na cavidade peritoneal 3 mL de PBS. Centrifugou-se as amostras por 2 min a 6000 rpm, e fez-se leitura do sobrenadante por espectroscopia com filtro de 520 nm (LAPA, 2007).

2.8.4 Ensaio de granuloma

Quatro orbes de algodão (*pellets*) pesando 10 mg (0,01g) cada, foram colocadas no dorso dos camundongos anestesiados com 80 mg/Kg de ketamina e 20 mg/Kg de xilazina. Os animais foram tratados (v.o.) com salina 0,9%, dexametasona 5 mg/Kg, com 25, 50, 100 e 200 mg/Kg do OECC, e doses correspondentes de 4,97, 9,94, 19,88, 39,76 mg/Kg do composto β -cariofileno. Este ensaio teve duração de dez dias onde o tratamento foi feito diariamente. No décimo dia, os animais foram eutanasiados, e os blocos de algodão foram retirados da região dorsal, e colocados em estufa para secagem durante 24 h a uma temperatura de 37 °C sendo em seguida determinado o peso dos *pellets*. Em seguida, foi feito o homogenato destes para a dosagem de proteínas totais, aplicando ao homogenato um reagente contendo biureto que reage com as proteínas presentes na amostra e desenvolve uma coloração roxa proporcional a concentração proteica. Após 10 min foi feita a leitura da amostra por espectroscopia com filtro de 550 nm (SWINGLE; SHIDEMAN, 1972).

2.9 Ensaios comportamentais

2.9.1 Campo aberto

Os animais foram tratados (v.o.) com salina 0,9%, OECC 25, 50, 100 e 200 mg/Kg e com diazepam 5 mg/Kg (i.p.). Após 30 min, para o diazepam, e 1h, para os outros grupos, cada animal foi colocado individualmente no campo aberto e durante 5 min, foram observados o

número de cruzamentos, *grooming*, ou auto-limpeza, e *rearing*, ou exploração vertical (LAPA, 2007).

2.9.2 Placa perfurada

Os animais foram tratados (v.o.) com salina 0,9%, OECC 25, 50, 100 e 200 mg/Kg e com diazepam 5 mg/Kg (i.p.). Após 30 min, para o diazepam, e 1h, para os outros grupos, cada animal foi colocado individualmente no centro da placa, e durante 5 min, foram contabilizados o número de imersões da cabeça nos orifícios da placa perfurada (BOISSIER; SIMON, 1962; 1964; LAPA, 2007).

2.10 Teste do *rota-rod*

Para a realização desse teste, 24 h antes os camundongos foram selecionados de acordo com um treinamento que consistia colocá-los na barra giratória, onde os animais selecionados teriam de permanecer na barra giratória a 16 rpm por até de 1 min. No dia do experimento, os animais foram tratados (v.o.) com salina 0,9%, OECC 25, 50, 100 e 200 mg/Kg e com diazepam 5 mg/Kg (i.p.). Após 30 min, para o diazepam, e 1h, para os outros grupos, cada animal foi colocado no *rota-rod*, onde foi registrado o tempo em que cada um permaneceu na barra giratória com um tempo de corte de 3 min, sendo permitidas até três reconduções ao aparelho em eventuais quedas durante a observação (DUNHAM; MIYA, 1957).

Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à análise pelo programa GraphPad Prism 5.0. O procedimento de comparação utilizado foi ANOVA de uma via (One-way) ou ANOVA de duas vias (Two-way), aplicando-se como *post hoc* o teste de Tukey para ambos os casos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição química do óleo essencial das folhas de *Croton campestris* A. St.-Hil.

A análise da composição química do óleo revela uma maior concentração do monoterpeno oxigenado 1,8-cineol (16,98%), e os sesquiterpenos β -cariofileno (15,91%), germacreno-D (14,51%) e biciclogermacreno (10,41%) (Tabela 1).

Tabela 1. Composição química do óleo essencial das folhas de *Croton campestris* A. St.-Hil.

RT (min)	Compostos	%	IK Lit.
5,21	α -pineno	3.48	939
6,20	Sabinense	2.38	976
6,79	Mirceno	5.53	991
7,65	<i>p</i> -cimeno	5.40	1026
7,84	1,8-cineol	16.98	1033
8,71	γ -terpineno	5.45	1062
10,10	Linalool	1.08	1098
15,98	Acetato de bornila	3.50	1285
18,05	α -terpinil acetato	1.68	1346
18,74	α -copaeno	1.74	1376
20,07	β -cariofileno	15.91	1418
21,02	α -humuleno	2.10	1452
21,93	Germacreno-D	14.51	1480
22,38	Biciclogermacreno	10.41	1494
23,19	δ -cadineno	1.10	1524
24,65	Espatuleno	3.68	1576
24,74	Óxido de cariofileno	1.73	1581
25,31	Viridiflorol	1.22	1590
26,47	α -cadinol	2.10	1653

RT - Tempo de retenção (*Retention Time*); IK Lit. - Índice de Kovats encontrado na literatura.

Estudos realizados por Almeida et al. (2013), comprovam que o óleo essencial de *Croton campestris* apresenta o β -cariofileno como constituinte majoritário, dados estes que condizem com análise feita no presente estudo, onde este composto está presente como um dos constituintes majoritários.

Óleos essenciais extraídos de diversas espécies do gênero *Croton* apresentam em sua constituição o composto β -cariofileno: *Croton cajucara* (SILVA et al., 2012b), *Croton isabelli* (VUNDA et al., 2012), *Croton bonplandianus* (JOSHI, 2014) e *Croton zehntneri* (DONATI et al., 2015). Em alguns estudos, a análise da composição de outras espécies *Croton* revelaram a presença tanto do β -cariofileno, como do 1,8-cineol como é o caso do *Croton nepetaefolius* (LIMA-ACCIOLY et al., 2006), *Croton zehntneri* (COELHO-DE-SOUZA et al., 2013), *Croton adamantinus* (XIMENES et al., 2013) e *Croton kimosorum* (RABEHAJA et al., 2014).

Ao ser analisada a composição do óleo essencial das espécies *Croton adenocalyx*, *Croton pullei* e *Croton urucurana*, constatou-se a presença de germacreno-D (CRAVEIRO et al., 1990; ROCHA et al., 2008; SIMIONATTO et al., 2009). A espécie *C. flavens* apresenta β -cariofileno e germacreno-D em sua composição (SYLVESTRE et al., 2006). Já o *Croton sonderianus* apresentam β -cariofileno e germacreno-D e 1,8-cineol (DOURADO; SILVEIRA, 2005).

3.2 Toxicidade oral aguda

A administração do óleo essencial do *Croton campestris* A. St.-Hil não apresentou efeitos tóxicos analisados pelos parâmetros comportamentais da tabela de Malone e Robichaud (1962), nem houve mortalidade na dose de 5000 mg/Kg. Para realização dos testes de triagem farmacológica, as doses foram determinadas respeitando o limite de 10% da DL50. Portanto, as doses determinadas foram de 25, 50, 100 e 200 mg/Kg do OECC. As doses do composto β -cariofileno, utilizadas na triagem farmacológica, foram 4,97, 9,94, 19,88 e 39,76 mg/Kg, doses estas que correspondem às mesmas concentrações deste sesquiterpeno presente no OECC, que representa 15,91%.

Esses dados mostram-se relevantes considerando a importância que a ausência de toxicidade representa no planejamento e desenvolvimento de novos fármacos, onde há uma recorrente procura por fármacos que possam aliar a sua alta eficácia de ação com poucos efeitos

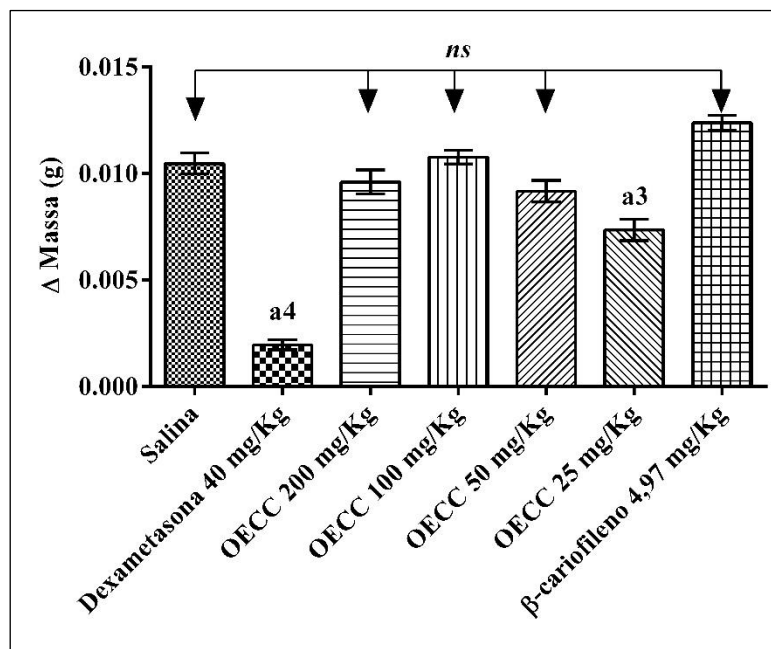
adversos, sendo considerado um requisito importante na qualidade de fármacos (KOROLKOVAS, 1988; WERMUTH, 2003; FERREIRA, 2003).

3.3 Ensaios de triagem farmacológica da ação anti-inflamatória

3.3.1 Edema agudo e crônico de orelha induzido por óleo de cróton

Na avaliação da atividade anti-inflamatória tópica do óleo essencial sobre o edema agudo, observou-se uma redução do edema nos grupos dexametasona 40 mg/Kg e OECC 25 mg/Kg em 81,73% e 30% respectivamente, em relação ao edema apresentado pelo grupo salina. Enquanto isso, nos grupos salina, OECC 50, 100 e 200 mg/Kg e β -cariofileno 4,97 mg/Kg, não apresentaram redução de edema, obtendo valores similares estatisticamente (Figura 4).

Figura 4. Efeito tópico do óleo essencial de *Croton campestris* sobre o edema agudo de orelha induzido por óleo de cróton.



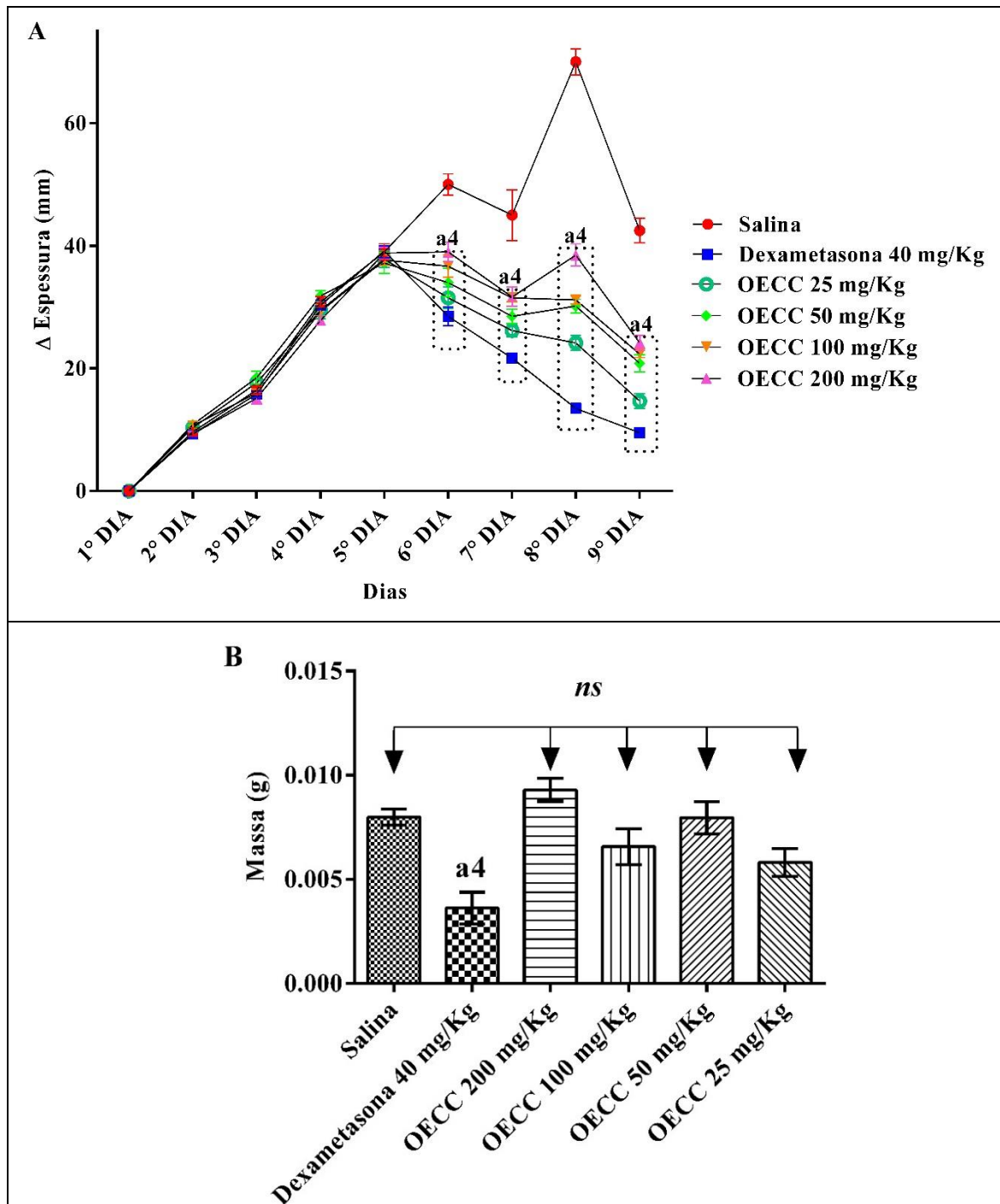
Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). One-way ANOVA seguida do teste de Tukey. ^{a4}p < 0,0001 vs salina; ^{a3}p < 0,001 vs salina; ns - não significativa.

Na avaliação da atividade antiedematogênica tópica crônica do óleo essencial, observou-se uma redução significativa do edema nos dias 6, 7, 8 e 9 do ensaio, correspondentes aos dias de tratamento, verificados nos grupos dexametasona, OECC nas concentrações de 200, 100, 50 e 25 mg/Kg, sendo uma redução percentual de 43%, 22%, 26,7%, 32% e 37% respectivamente no 6º dia, em relação ao edema apresentado pelo grupo salina, edema este representado pela onde os valores representam a espessura das orelhas. No 7º dia, observou-se uma redução do edema em 51,9%, 55,5%, 29,6%, 36,7% e 41,9%, nos grupos dexametasona, OECC 200, 100, 50 e 25 mg/Kg respectivamente. No 8º dia observou-se uma redução de 80,7%, 45%, 55,5%, 57% e 65,5% nos mesmos grupos e no 9º dia observou-se uma redução de 77,6%, 43,1%, 47,4%, 51% e 65,5% respectivamente (Figura 5A). Porém ao avaliar o edema ao final do experimento pela massa das orelhas no nono dia de experimento, não observou-se diferença estatística entre os grupos do OECC e do grupo salina (Figura 5B).

O óleo de cróton é um composto irritante que, ao ser aplicado na epiderme, desencadeia uma resposta inflamatória (PAWLACZYK et al., 2013). Isto se deve aos principais agentes irritantes presentes na composição do óleo de cróton sendo ele o 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA), um derivado de éster de forbol, cuja aplicação tópica desencadeia a formação do edema, com infiltração de neutrófilos, leucócitos polimorfonucleares, produção de citocinas, prostaglandinas, leucotrienos e aumentos na permeabilidade vascular (PATEL et al., 2012; PASSOS et al., 2013; TRIVELLATOGRASSI et al., 2013). Inibidores de cicloxigenase e inibidores de 5-lipoxigenase são potentes inibidores do processo inflamatório iniciado pelo TPA (SARAIVA et al., 2011).

Os mecanismos moleculares da ação do TPA, envolvem a indução da ação enzimática da fosfolipase A2 por meio da ativação da proteína quinase C (PKC), provocando a formação do AA, onde este irá produzir seus metabolitos tais como leucotrienos e prostaglandinas (GARG et al., 2008). O edema também se deve à presença de histamina e a serotonina. Logo, os agentes antiedematogênicos suprimem o edema de orelha ao inibir a fosfolipase A2, e por conseguinte as enzimas cicloxigenase e lipoxigenase, como é o caso da dexametasona (ZHANG et al., 2007).

Figura 5. Efeito tópico do óleo essencial de *Croton campestris* sobre o edema crônico de orelha induzido por óleo de cróton.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). (A) Espessura das orelhas avaliados por nove dias. Two-way ANOVA, seguida do teste de Tukey. (B) Massa das orelhas no nono dia. One-way ANOVA, seguida do teste de Tukey. ^{a4} $p < 0,0001$ vs salina; *ns* - não significante.

O OECC demonstrou ação anti-inflamatória tópica apenas na concentração de 25 mg/Kg. No edema crônico, percebeu-se redução na espessura do edema a partir do dia de tratamento, porém ao avaliar as massas das orelhas não se observa ação redutora do edema pelo óleo. Já o β -cariofileno não apresentou nenhuma atividade sobre edema agudo de orelha. Essa ação não muito significativa do OECC na ação tópica pode estar relacionada ao seu pouco envolvimento na ação direta sobre a fosfolipase A2, como age a dexametasona.

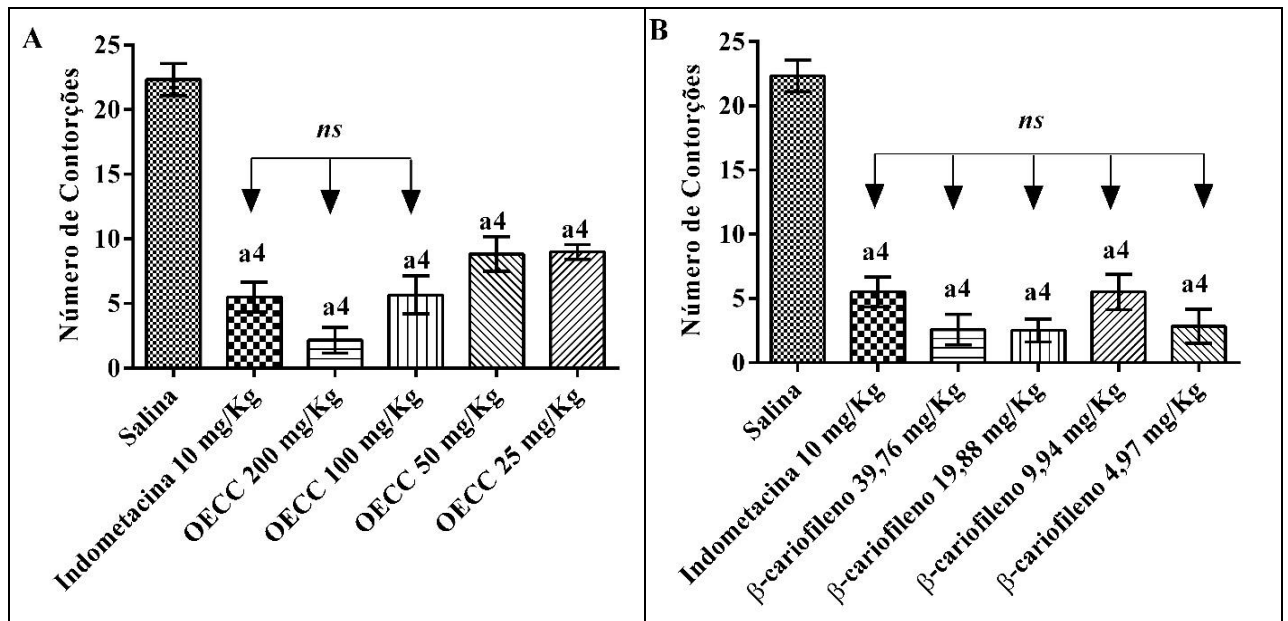
3.3.2 Contorções abdominais induzidas por ácido acético

Na avaliação do número de contorções abdominais induzidas por ácido acético, o grupo tratado com indometacina, apresentou uma redução de 75,4% no número de contorções, bem como os grupos tratados por óleo apresentaram uma redução de 90,3% na concentração de 200 mg/Kg; 74,6% na concentração de 100 mg/Kg; 60,4% no grupo tratado na concentração de 50 mg/Kg e 59,7% na concentração de 25 mg/Kg. Os grupos indometacina, OECC 200 e 100 mg/Kg não apresentaram diferença estatística entre si (Figura 6A). No tratamento com β -cariofileno nas doses de 39,76, 19,88, 9,94 e 4,97 mg/Kg, houve uma redução de edema de 88,5%, 90,4%, 75,4% e 87,3% respectivamente, sendo que todos esses grupos em relação ao grupo indometacina foram similares (Figura 6B).

O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético, é adequado tanto para avaliar a ação de drogas que agem a nível central na redução da dor, como os opióides, quanto drogas anti-inflamatórias, estas agindo periféricamente, como os AINEs, já que o ácido acético atua indiretamente induzindo a liberação de mediadores pró-inflamatórios, que sensibilizam os nociceptores (BARROT, 2012), sendo geralmente utilizado para avaliação da ação periférica de drogas (PAVÃO-DE-SOUZA et al., 2012).

A aplicação de ácido acético na cavidade intraperitoneal estimula o aumento de produtos de cicloxigenase, lipoxigenase e liberação de mediadores inflamatórios, como substância P, bradicinina, histamina, serotonina, citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , IL -1 β , e IL-8, e degranulação de mastócitos na região peritoneal. Além disso há um aumento nos níveis de prostaglandinas, especialmente PGE2, PGF2 PGI2, por conseguinte há aumento da permeabilidade vascular (BAHAMONDE et al., 2013; RADU; CHERNOFF, 2013).

Figura 6. Efeito do óleo essencial de *Croton campestris* (A) e do β -cariofileno (B) sobre contorções abdominais induzidas por ácido acético.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). One-way ANOVA seguida do teste de Tukey. ^{a4} $p < 0,0001$ vs salina; ns – não significante.

Em seguida essas substâncias endógenas liberadas irão estimular as terminações nervosas nociceptivas induzindo uma dor de gênese inflamatória (IKEDA et al., 2001; TAESOTIKUL et al., 2003; AFSAR et al., 2015). Tem sido demonstrado que a inibição das prostaglandinas por aspirina e outros AINEs, tem relação com a inibição da dor gerada por estímulos inflamatórios (INGER et al., 2010).

O óleo essencial de *Croton cajucara* na dose de 1000 mg/Kg, reduziu as contorções abdominais induzidas por ácido acético (BIGHETTI et al., 1999). O óleo essencial de *Croton sonderianus* nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg reduziu o número de contorções induzidas por ácido acético em relação ao controle, além de apresentar como componentes o β -cariofileno e 1,8-cineol (SANTOS et al., 2005). *Croton adamantinus* além de apresentar em sua constituição o β -cariofileno e 1,8-cineol, também mostrou-se efetivo neste ensaio nas doses de 50 e 100 mg/Kg (XIMENES et al., 2013).

Estudos com o composto 1,8-cineol mostrou ação efetiva na redução de contorções abdominais nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg (SANTOS; RAO, 2000).

Estes estudos reforçam que os constituintes do óleo essencial podem ter influência por ação conjunta na atividade observada. Logo as substâncias testadas no presente trabalho

possivelmente podem ter apresentado sua efetividade ao inibir a ação da cicloxigenase ou através de sua ação direta em seus metabólitos como a prostaglandina, como e o caso da ação dos AINEs.

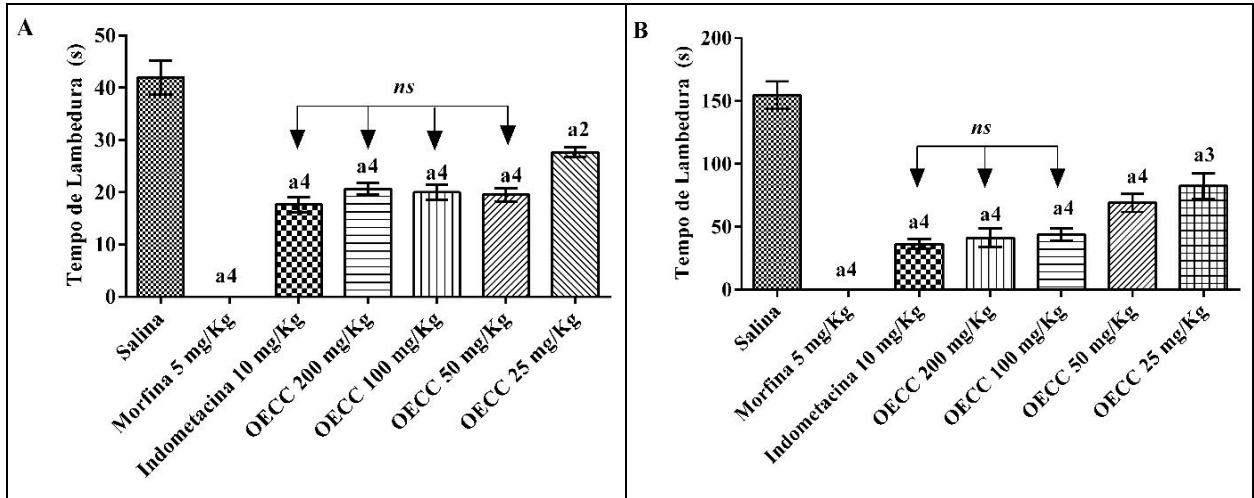
3.3.3 Teste de formalina

Na fase 1 do teste de formalina, ou seja a fase neurogênica, observou-se uma redução de 100% no tempo de lambedura da pata, nos animais tratados com morfina em relação ao controle salina, assim como os animais tratados com indometacina, que apresentaram uma redução 57,9% no tempo de lambedura. Os animais tratados com o óleo essencial nas concentrações de 200, 100, 50 e 25 mg/Kg, apresentaram uma redução de lambedura de 50,8%, 52,4%, 53,6% e 34,1% respectivamente. Em contrapartida observa-se que os resultados apresentados pela indometacina são similares aos apresentados pelo óleo essencial nas concentrações de 200, 100 e 50 mg/Kg, sendo comprovado estatisticamente que esses grupos não apresentam diferença significativa entre si (Figura 7A).

Na fase 2, ou fase inflamatória, a Morfina permanece com seu efeito ao reduzir em 100% o tempo de lambedura das patas em relação ao grupo salina. A indometacina apresentou uma redução de 76,50% no tempo de lambedura, e o OECC apresentou diminuição de 73,3%, 71,6%, 55,3% e 46,6% respectivos, nas concentrações de 200, 100 e 50 mg/Kg. Observa-se nesta fase do ensaio, a semelhança nos valores apresentados pelo OECC em 200 e 100 mg/Kg, com o grupo indometacina, onde foi comprovado estatisticamente pela ausência de diferença significativa nos valores desses grupos entre si (Figura 7B).

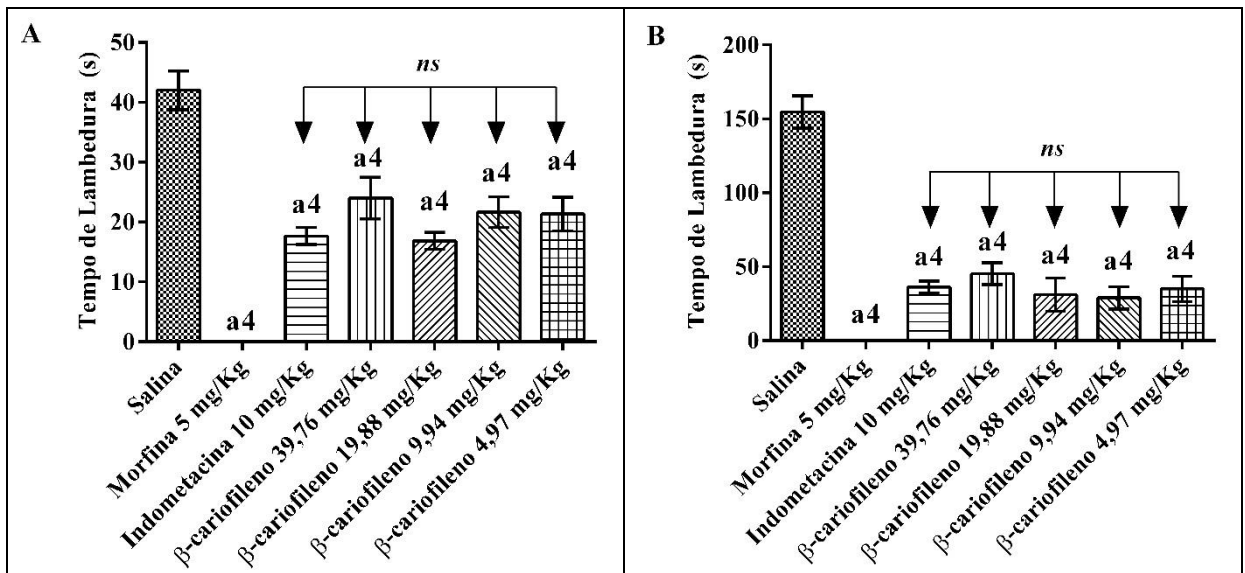
No tratamento com indometacina 10 mg/Kg e β -cariofileno nas doses de 39,76, 19,88, 9,94 e 4,97 mg/Kg, houve redução do número de lambeduras na fase 1 representando uma redução de 57,9%, 42,8%, 59,9%, 48,4% e 49,2% respectivamente (Figura 8A). Na fase 2 esses cinco grupos apresentaram respectivos 76,5%, 70,7%, 79,8%, 81,2% e 77,4% como percentuais de redução, sendo que em ambas as fases, esses cinco grupos apresentaram valores similares entre si (Figura 8B).

Figura 7. Efeito do óleo essencial de *Croton campestris* no ensaio da formalina.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). (A) Fase neurogênica; (B) Fase inflamatória. One-way ANOVA seguida do teste de Tukey. ^{a4}p < 0,0001 vs salina; ^{a2}p < 0,01 vs salina ns – não significante.

Figura 8. Efeito do β -cariofileno no ensaio da formalina.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). (A) Fase neurogênica; (B) Fase inflamatória. One-way ANOVA seguida do teste de Tukey. ^{a4}p < 0,0001 vs salina; ns – não significante.

O ensaio de formalina é um modelo que visa explorar a atividade analgésica e anti-inflamatória de compostos, através de mecanismo de dor de origem central e periférica

(FILLINGIM et al., 2009; MELNIKOVA, 2010). Com efeito, este modelo apresenta duas fases distintas (SOLDI et al., 2008). No primeiro momento, concomitante à sua aplicação, a formalina induz uma dor aguda neurogênica, ou seja, de origem central, provocada por uma estimulação direta da formalina sobre as fibras-C sensoriais, além de ser mediada pela substância P, glutamato e bradicinina. A segunda fase, ou fase inflamatória, é caracterizada por uma dor decorrente da sensibilização de nociceptores por liberação de mediadores inflamatórios tais como histamina, prostaglandina, serotonina e bradicinina (HUNSKAAR; HOLE, 1987; BARROT, 2012).

Drogas de ação central, como a morfina, inibem as duas fases, enquanto medicamentos, que atuam a nível periférico tais como o ácido acetilsalicílico, diclofenaco e indometacina, tendem a inibir principalmente a fase tardia (ALMEIDA et al., 2001; UDOBANG et al., 2010).

Em estudos prévios, o óleo essencial de *Croton zehntneri* nas doses de 100 e 300 mg/Kg, demonstrou ação anti-inflamatória através do teste de formalina, onde tais doses reduziram o tempo de lambertura na pata na segunda fase do teste (OLIVEIRA et al., 2001). Os óleos essenciais de *Croton sonderianus* na dose de 100 mg/Kg e de *Croton adamantinus* nas doses de 50 e 100 mg/Kg também apresentaram uma significativa atividade neste ensaio ao reduzir o tempo de lambertura na pata, além de que ambos apresentaram em sua composição o β -cariofileno e o 1,8-cineol (SANTOS et al., 2005; XIMENES et al., 2013).

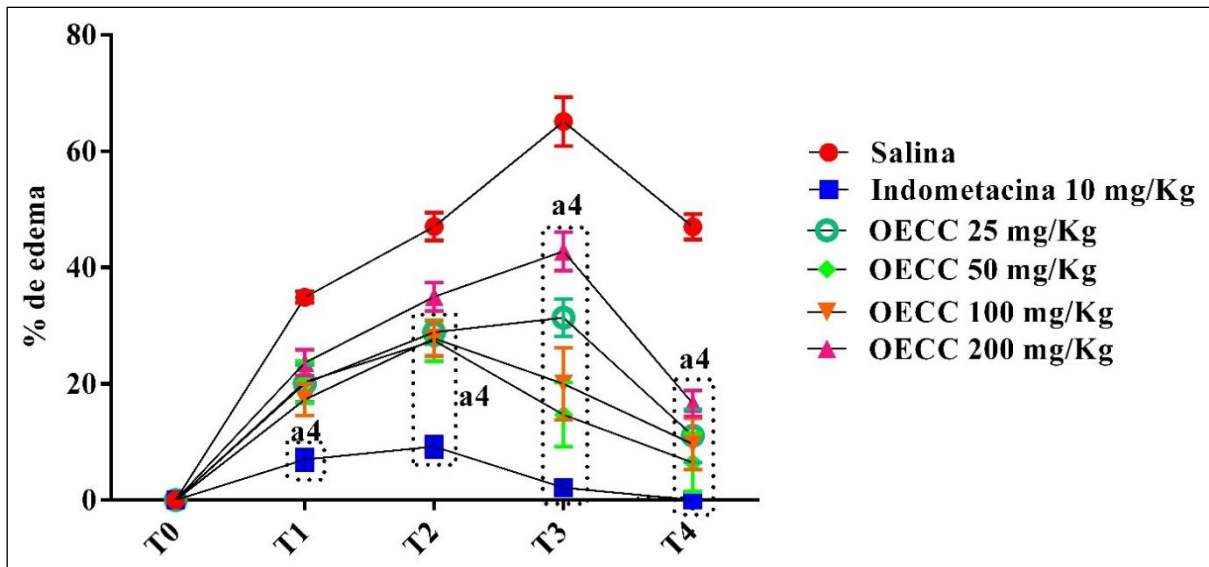
Essas evidências sugerem mais uma ligação entre a ação do OECC e a presença de seus constituintes majoritários β -cariofileno e 1,8-cineol, onde supõe-se que o óleo e o sesquiterpeno testado, atuam reduzindo a liberação de aminas vasoativas, cininas e metabolitos da COX-2 e por conseguinte inibição da sensibilização dos nociceptores.

3.3.4 Edema de pata induzido por carragenina

Observa-se no gráfico abaixo (Figura 9), que a partir do tempo 2 de avaliação, houve uma redução no percentual no edema de pata nos grupos indometacina, OECC 100, 50 e 25 mg/Kg em relação ao grupo Salina, de 80,4%, 40,9%, 41,7%, 38,6% respectivamente. No tempo 3, os grupos indometacina, OECC 200, 100, 50 e 25 mg/Kg apresentaram um percentual de redução de 96,7%, 34,3%, 69,3%, 77,4% e 51,8% respectivamente em relação ao controle salina. Por fim, no tempo 4 houve uma diminuição de 98%, 64,7%, 79,5%, 86,2% e 76,5% no

valor do edema, nessa mesma sequência de grupos testados, onde também não apresentaram diferença estatística entre si, sendo significativamente similares.

Figura 9. Efeito do óleo essencial de *Croton campestris* sobre o edema de pata induzido por carragenina.

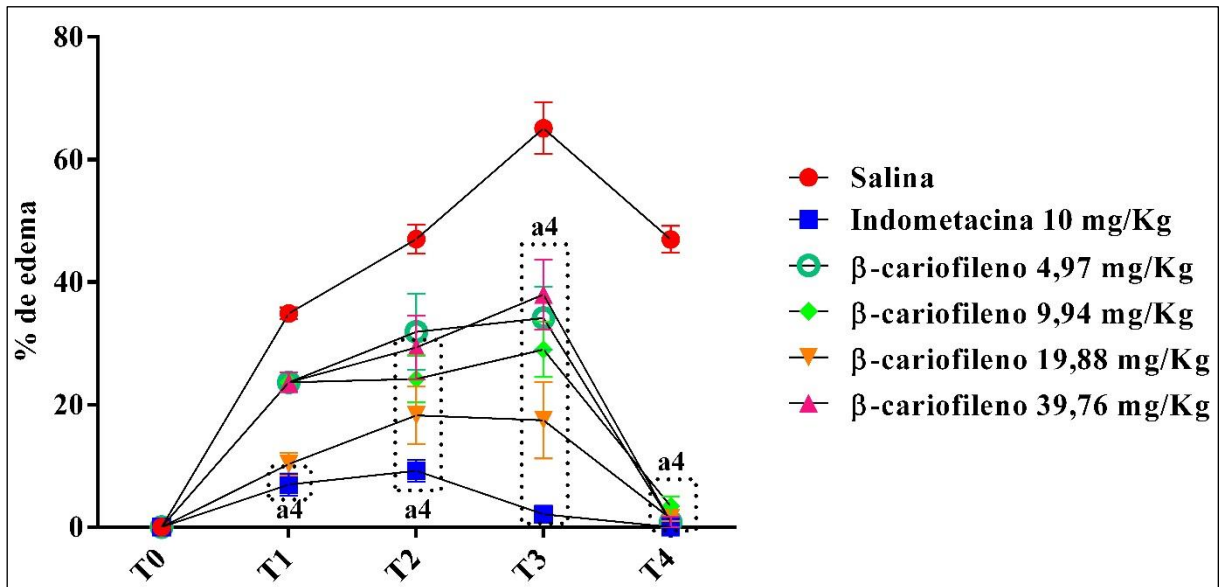


Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). Two-way ANOVA seguida do teste de Tukey. T1: 1 h após indução; T2: 2 h após indução; T3: 3 h após indução; T4: 4 h após indução. $a^4p < 0,0001$ vs salina.

Nos grupos tratados com β -cariofileno houve resultados significantes a partir do tempo 2 de avaliação onde os grupos com doses de 39,76, 19,88, 9,94 e 4,97 mg/Kg, apresentaram respectivamente uma redução de 37,6%, 61,1%, 48,6%, 32,2% em reação ao salina. Já no tempo 3 essa redução foi de 41,7%, 73,2%, 55,4%, 47,6% respectivamente. No tempo 4 de avaliação todos os grupos tratados pelo sesquiterpeno foram estatisticamente similares ao grupo indometacina (Figura 10).

A carragenina é um polissacarídeo sulfatado, bastante empregado como um agente flogístico promovendo uma inflamação aguda, induzindo uma resposta pró-inflamatória (HAIDER et al., 2011; SADEGHI et al., 2011; SHANG et al., 2011; NECAS; BARTOSIKOVA, 2013; SOLANKI et al., 2015). A resposta à sua indução é caracterizada pelo edema, com invasão local de células inflamatórias (MOLLER et al., 2008).

Figura 10. Efeito do β -cariofileno sobre o edema de pata induzido por carragenina.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). Two-way ANOVA seguida do teste de Tukey. T1: 1 h após indução; T2: 2 h após indução; T3: 3 h após indução; T4: 4 h após indução. ^{a4} $p < 0,0001$ vs salina.

A indução de carragenina promove um processo inflamatório bifásico: na primeira fase com duração de até 2 h, ocorre rápida produção de mediadores como histamina, serotonina e bradicinina (BOUGHTON-SMITH et al., 1993; BHUKYA et al., 2009). Na segunda fase ou fase tardia que dura entre 3 e 6 h, ocorre liberação de prostaglandinas principalmente a prostaglandina E2, contribuindo para o aumento da permeabilidade vascular, produzindo edema e mobilização dos leucócitos (BOUGHTON-SMITH et al., 1993; CAMPO et al., 2009; BUSNARDO et al., 2010). Citocinas pró-inflamatórias tais como TNF- α e IL-1 β também são liberadas, bem como óxido nítrico (NO) (HALICI et al., 2007; FELDMANN; MAINI, 2008; CODARRI et al., 2010). Este último é um potente vasodilatador e também está envolvido na formação do edema (CHENG et al., 2010).

O OECC e o β -cariofileno em todas as doses testadas reduziram significativamente o edema durante a fase de pico de ação desse agente flogístico, que ocorre na terceira hora de avaliação. Porém as doses que se mostraram mais efetivas foram as doses de 50 e 100 mg/Kg para o OECC, e as doses de 9,94 e 19,88 mg/Kg para o β -cariofileno.

Óleo essenciais de outras espécies do gênero *Croton* mostraram atividade anti-inflamatória frente ao modelo de edema de pata induzido por carragenina, tais como *Croton*

argyrophyllus nas doses de 10, 30 e 100 mg/Kg (RAMOS et al., 2013) e *Croton cajucara* nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg (BIGHETTI et al., 1999), sendo que na avaliação de suas composições químicas estas espécies apresentaram o β -cariofileno (SILVA et al., 2012b; RAMOS et al., 2013) como parte de sua constituição.

Dahham et al. (2015), evidenciou que o β -cariofileno nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg, reduziu o edema causado pela carragenina neste modelo, além de demonstrar por análise de varredura da tomografia molecular, que o β -cariofileno apresentou efeito dose-dependente, demonstrando uma intensidade de fluorescência menor, quanto maior for a dose do sesquiterpeno administrada. Em outro estudo o esse composto na dose de 50 mg/Kg reduziu o edema, e os níveis de TNF- α , PGE2, INOs e COX-2 todos induzidos por carragenina na região intra-plantar (FERNANDES et al., 2007). Em outros estudos, o 1,8-cineol mostrou-se potente na ação anti-inflamatória ao reduzir o edema de pata por carragenina nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg (SANTOS; RAO, 2000).

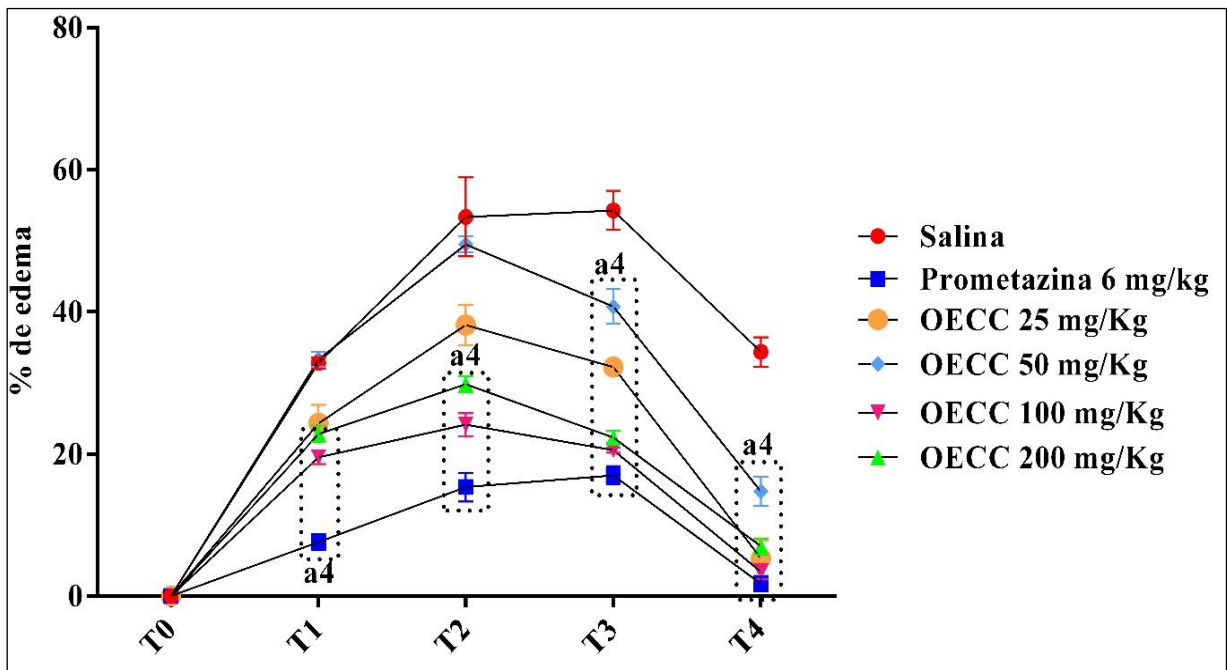
Os estudos acima citados, vão ao encontro dos dados revelados no presente estudo, onde todas as doses testadas do OECC e do constituinte β -cariofileno apresentaram uma ação efetiva, ao reduzir significativamente o edema de pata induzido pela carragenina, sendo que seus dois constituinte majoritários podem ter uma influência direta no efeito demonstrado pelo óleo essencial, onde possivelmente ambos podem agir na inibição da produção de citocinas, ou inibindo a cascata da cicloxigenase, impedindo assim a produção de prostaglandinas, e por conseguinte inibindo visivelmente o edema.

3.3.5 Edema de pata induzido por dextrana

No tempo 1, ou primeira hora de avaliação, os grupos prometazina 6 mg/Kg e OECC 200 e 100 mg/Kg apresentaram uma redução no percentual de edema de 76,7%, 30,5% e 40,5% respectivamente. No tempo 2 de avaliação, esses mesmo grupos apresentaram significância na redução de edema em relação ao grupo salina, com redução de 71,2%, 44,1% e 99,5% respectivamente. No tempo 3, ou terceira hora de avaliação, todos os grupos mostraram-se diferentes estatisticamente em relação ao controle salina, onde os grupos prometazina 6 mg/Kg, OECC 200, 100, 50 e 25 mg/Kg apresentaram respectivamente 68,7%, 58,8%, 62,1%, 40,6% e 25% de redução de edema. Neste mesmo tempo de avaliação, os grupos tratados com óleo essencial na concentração de 200 e 100 mg/Kg, não apresentaram diferença estatística em

relação ao grupo tratado com a droga comercializada, a prometazina. No tempo 4, observa-se redução generalizada no volume das patas em todos os grupos, mantendo-se uma diferença significativa entre o grupo salina e os demais grupos (Figura 11).

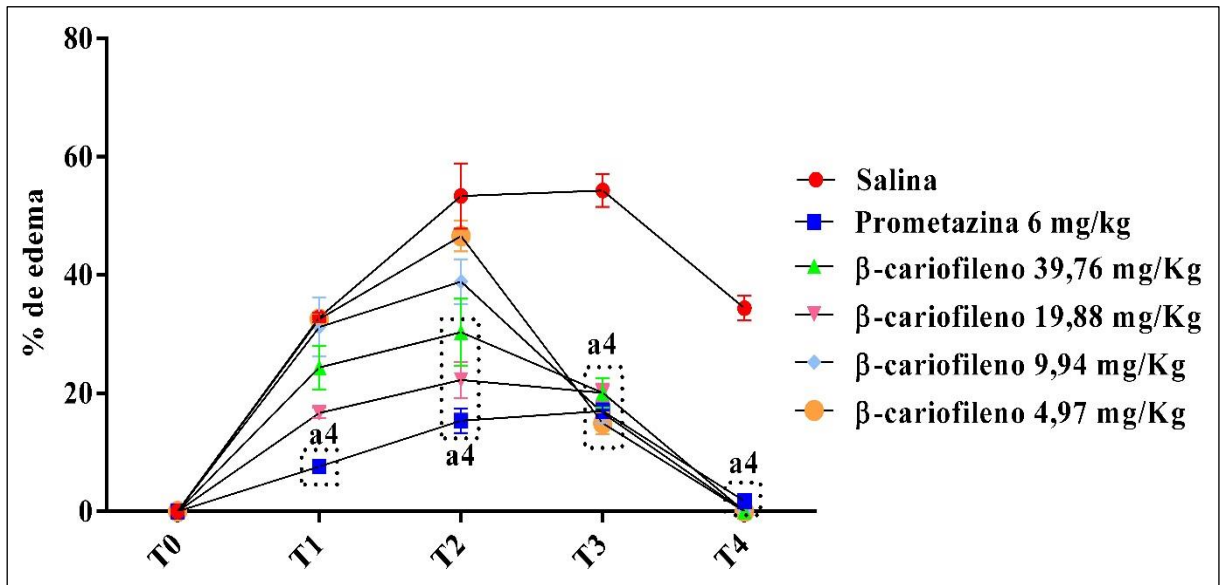
Figura 11. Efeito do óleo essencial de *Croton campestris* sobre o edema de pata induzido por dextrana.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). Two-way ANOVA seguida do teste de Tukey. T1: 1 h após indução; T2: 2 h após indução; T3: 3 h após indução; T4: 4 h após indução. ^{a4} $p < 0,0001$ vs salina.

Na avaliação da ação do β -cariofileno observa-se que no tempo 2, onde houve o pico de ação da dextrana, os grupos tratados com prometazina 6 mg/Kg e com o sesquiterpeno nas doses de 39,76 e 19,88 mg/Kg apresentaram respectivamente uma redução de 99,7%, 43,1% e 58,3% no edema de pata, em relação ao salina. Na terceira e quarta hora de avaliação, todos os grupos reduziram o edema em relação ao controle, mostrando resultados similares estatisticamente (Figura 12).

Figura 12. Efeito do β -cariofileno sobre o edema de pata induzido por dextrana.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). Two-way ANOVA seguida do teste de Tukey. T1: 1 h após indução; T2: 2 h após indução; T3: 3 h após indução; T4: 4 h após indução. ^{a4} $p < 0,0001$ vs salina.

A dextrana é conhecida por ser um polissacarídeo que provoca degranulação mastocitária, com liberação das aminas vasoativas, histamina e serotonina, as quais, contribuem para aumentar a permeabilidade vascular e o extravasamento de fluido, formando o edema, apresentando pico máximo de ação na segunda hora (SARTORI et al., 2003; SILVA et al., 2014). O edema induzido por dextrana é diferente do induzido pela carragenina. No primeiro, o exsudato formado possui poucas proteínas e neutrófilos, enquanto a carragenina induz um edema com grande concentração de ambos (EL-SHENAWY et al., 2002).

Cho e colaboradores (2007) mostraram em seus estudos que o β -cariofileno nas doses 30 e 300 mg/Kg, possui efeito anti-inflamatório frente ao modelo de colite induzida por dextrana, além de reduzir o RNAm de expressão do IL-6, sendo que a dose de 300 mg/Kg também reduziu diretamente a concentração de IL-6. No presente estudo tanto o OECC como seu constituinte majoritário, apresentaram redução significativa do edema no momento de pico da dextrana, indicando uma possível influência na redução da expressão de tais citocinas inflamatórias e inibição da liberação de aminas vasoativas.

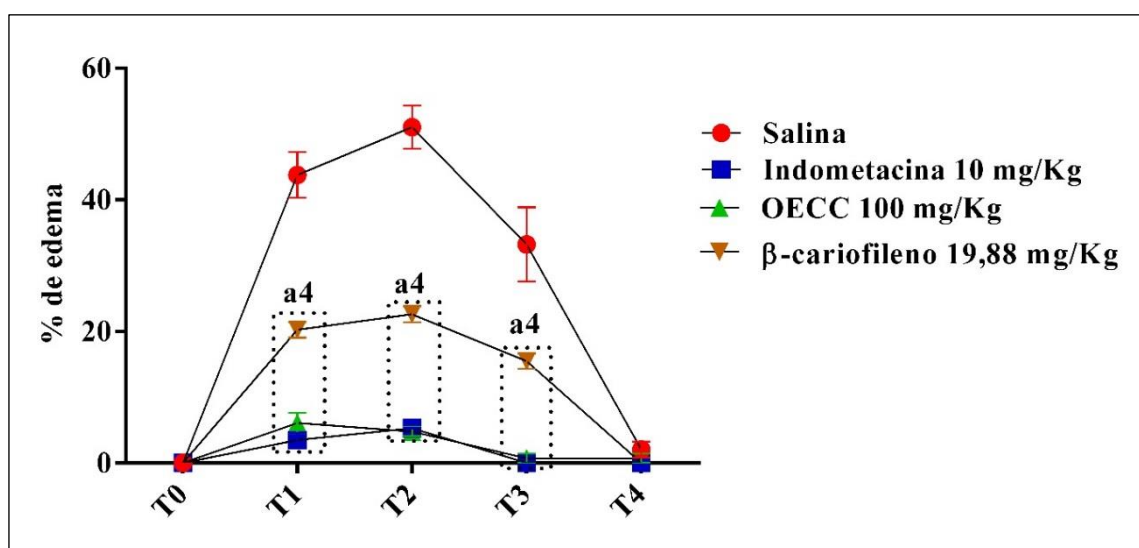
3.4 Mecanismos da atividade anti-inflamatória

Para ensaios seguintes de mecanismos, padronizou-se a dose efetiva do OECC, representando a menor dose que evocasse o melhor efeito nos testes de triagem, sendo portanto definida a dose de 100 mg/Kg acompanhada da dose de 19,88 mg/Kg equivalente de β -cariofileno.

3.4.1 Edema de pata induzido por ácido araquidônico

Neste ensaio experimental, os grupos indometacina, OECC 100 mg/Kg e β -cariofileno 19,88 mg/Kg, apresentaram resultados semelhantes, comprovados por não apresentarem diferença estatística entre si nos tempos de avaliação de 15 min ao tempo de 60 min. Além de que os grupos indometacina, OECC 100 mg/Kg e β -cariofileno 19,88 mg/Kg, mostraram uma redução significativa no percentual de edema em relação ao controle, nos tempos de 15 a 45 min de avaliação, apresentando respectivamente 92%, 86% e 53,8% no tempo 15 min, 89,6%, 90,6% e 55,7% no tempo 30 min e 97%, 98% e 53,4% no tempo de 45 min (Figura 13).

Figura 13. Efeito do óleo essencial de *Croton campestris* e do β -cariofileno sobre o edema de pata induzido por araquidônico.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). Two-way ANOVA seguida do teste de Tukey. T1: 15 min após indução; T2: 30 min após indução; T3: 45 min após indução; T4: 60 min após indução
^{a4}p < 0,0001 vs salina.

O ácido araquidônico é um ácido graxo presente nos fosfolipídeos de membranas celulares. A fosfolipase A2 pode liberá-lo, e sua metabolização pode ser feita pelas enzimas cicloxigenases (COX-1 e COX-2) que leva a síntese de prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos; ou pelas enzimas lipoxigenases (LOX) que sintetizam leucotrienos e lipoxinas (KATZUNG, 2008; KIM et al., 2013). Sendo assim, o ácido araquidônico (AA) é um precursor de PGE2 e leucotrienos, importantes mediadores inflamatórios. Por meio destes, o AA induz uma resposta inflamatória causando vasodilatação e, por conseguinte o edema, além de atuar como segundo mensageiro regulando a produção de óxido nítrico, que também é potente vasodilatador (KIM et al., 2007; SUNITA et al., 2011). Estudos mostram que AINEs como aspirina e o diclofenaco, são capazes de inibir a inflamação e dor através da inibição da síntese de prostaglandinas inibindo as enzimas COX (CHEN et al., 1995; ELENKOV; CHROUSOS, 2002; WISE et al., 2008; SILVA, 2010).

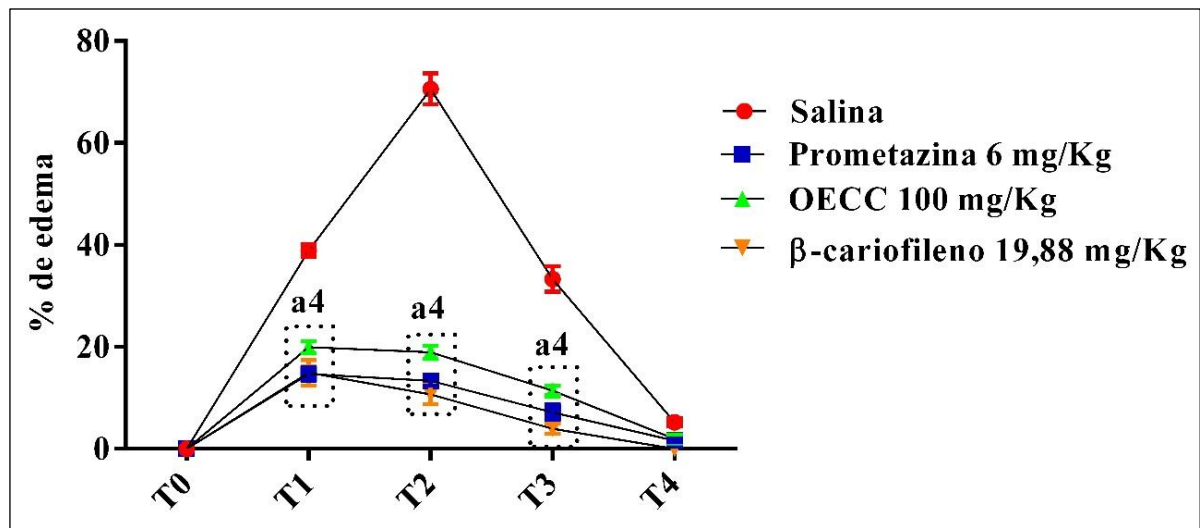
O efeito anti-inflamatório demonstrado pelo OECC e β -cariofileno neste ensaio, deve-se possivelmente a suas propriedades inibidoras das enzimas cicloxigenases, inibindo, dentre outras, a produção de prostaglandinas e por conseguinte inibindo o edema.

3.4.1 Edema de pata induzido por histamina

Nas três primeiras horas de avaliação após indução com agente flogístico, os grupos prometazina 6 mg/Kg, OECC 100 mg/Kg e β -cariofileno 19,88 mg/Kg, apresentaram uma redução do edema, significativa em relação ao controle, apresentando esses grupos um valor respectivo de 62,2%, 48,7% e 61,5% no tempo T1, 81%, 73,1% e 84,8% no tempo T2 e 78,45%, 65,7%, 88,1% no tempo T3 (Figura 14).

A histamina é um mediador inflamatório importante, bastante utilizado como modelo experimental para avaliação da ação anti-inflamatória aguda de drogas (GHOSH et al., 2015). A histamina juntamente com a serotonina, são as primeiras aminas vasoativas liberadas durante uma resposta inflamatória aguda, causando um aumento da permeabilidade vascular, atraindo neutrófilos para o local inflamado com formação de exsudato, atuando em conjunto com a prostaglandina ao promover o edema (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; KUMAR et al., 2005; VASUDEVAN et al., 2007). Este mediador exerce sua função no início da inflamação, isto explica sua ação rápida e duração passageira, onde o processo inflamatório dura pouco tempo após sua indução (GUTIERREZ, 2015).

Figura 14. Efeito do óleo essencial de *Croton campestris* e do β -cariofileno sobre o edema de pata induzido por histamina.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). Two-way ANOVA seguida do teste de Tukey. T1: 30 min após indução; T2: 60 min após indução; T3: 90 min após indução; T4: 120 min após indução. ^{a4}p < 0,0001 vs salina.

Fernandes et al. (2007), demonstrou que o β -cariofileno em 50 mg/Kg não foi capaz de reduzir o edema induzido por histamina. No entanto os dados aqui obtidos, discordam do trabalho citado a cima tendo em vista que o β -cariofileno apresentou atividade frente a este modelo, em uma dose ainda mais baixa de 19,88 mg/Kg, atuando como mais uma evidência de sua influência na ação anti-inflamatória do OECC, onde através da inibição direta da liberação de histamina, ocorre a redução do edema por inibição da ação direta desse agente sobre os vasos.

Essa diferença observada entre ambos os resultados pode ser atribuída às condições diferentes as quais os animais foram submetidos em cada um dos estudos. Como por exemplo, no trabalho desenvolvido por Fernandes et al. (2007), animais não estavam em jejum antes de receberem o tratamento e passaram por um tempo de aclimatação correspondente a 1 h antes dos ensaios, enquanto que no presente estudo, os animais passaram por aclimatização no ambiente de 24 h antes do ensaio, além se serem submetidos a um jejum de 8 h antes do tratamento.

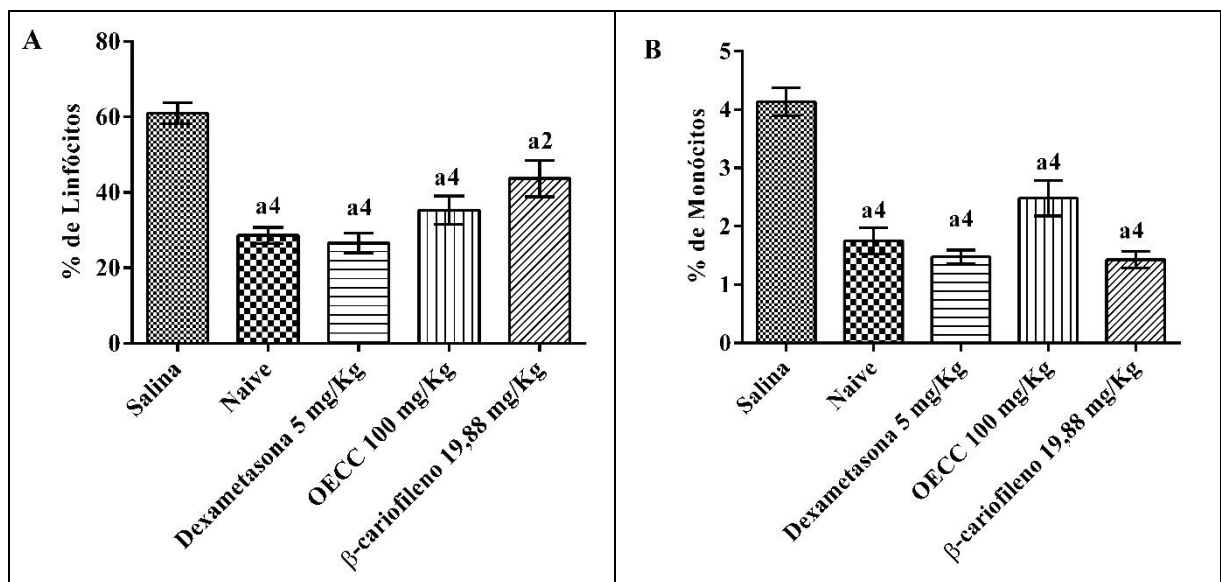
Damy et al. (2010), aponta os fatores como condições de aclimatação e a dieta sob o qual os animais são submetidos, como sendo alguns dos requisitos fundamentais para a

obtenção de resultados mais precisos e com alto grau reprodutibilidade, especificando a necessidade de um jejum com duração de pelo menos 4 h. Em relação ao tempo de aclimação, foi determinado que são necessárias pelo menos 72 h para a habituação dos camundongos ao ambiente, garantindo o bem-estar do animal e sua adaptação ao ambiente de experimentação (CAPDEVILA et al., 2007).

3.4.4 Peritonite

Nos animais tratados com dexametasona, OECC 100 mg/Kg e β -cariofileno 19,88 mg/Kg, houve uma redução na porcentagem de linfócito em relação ao controle em 56,4%, 42% e 28,3% respectivamente (Figura 15A). Esses mesmos grupos causaram diminuição significativa de monócitos em relação ao controle, sendo esta redução de 64,9%, 39,9% e 65,6% respectivamente (Figura 15B).

Figura 15. Efeito do óleo essencial de *Croton campestris* e do β -cariofileno sobre o percentual de leucócitos (linfócitos e monócitos).



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). (A) Percentual de linfócitos; (B) Percentual de monócitos. One-way ANOVA seguida do teste de Tukey. ^{a4}p < 0,0001 vs salina; ns = não significante.

A peritonite induzida por carragenina é caracterizada por uma inflamação aguda ocasionada por migração de neutrófilos no exsudado inflamatório (SOUZA et al., 1988). A liberação de prostanoídes e de TNF- α , IL-1 β , IL-8 estimula a vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular facilitando o movimento de tais neutrófilos, que migram pela vênula mesentérica para cavidade peritoneal (GONÇALVES et al., 2011; BITENCOURT et al., 2014; LIMA et al., 2014; RZODKIEWICZ et al., 2014; SYAM et al., 2014).

As citocinas pro-inflamatórias IL-1 β e TNF- α também estão envolvidas na indução da expressão de moléculas de adesão endoteliais, facilitando a diapedese de leucócitos (MEDZHITOV, 2010; SCHMIDT et al., 2013).

A inibição da migração de leucócitos para dentro da cavidade peritoneal, podem ser por dois mecanismos: pela inibição da produção de citocinas ou inibição da expressão de moléculas de adesão (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

O óleo essencial de *Croton argyrophyllus* nas concentrações de 10, 30 e 100 mg/Kg, reduziu significativamente o número de leucócitos em relação ao controle, na peritonite induzida por carragenina (RAMOS et al., 2013). Em outro estudo desenvolvido por Valer e colaboradores (2016), evidenciou-se que o óleo essencial de *Croton zehntneri* nas doses 125, 250 e 500 mg/Kg reduziu a migração intrapleural de leucócitos induzida por carragenina, além de que foi evidenciado nesse mesmo estudo a presença dos constituintes β -cariofileno e 1,8-cineol no óleo essencial. Em contrapartida, o óleo essencial de *Croton cajucara* também foi analisado em seu efeito de inibição na migração leucocitária, mas não apresentou efeito significativo (BIGHETTI et al., 1999).

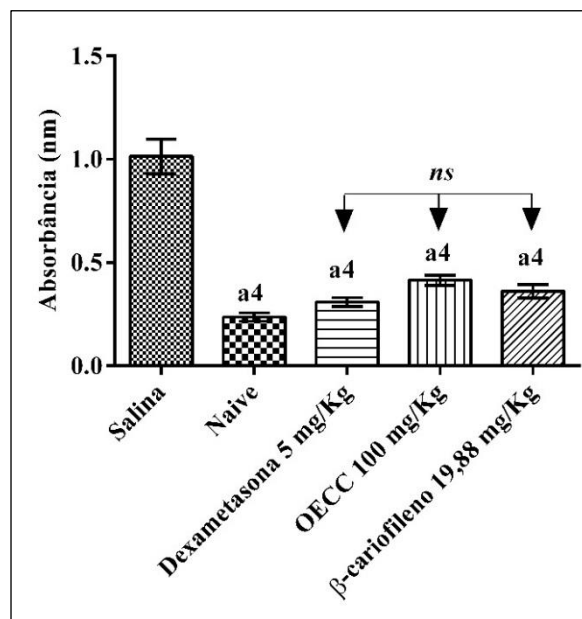
O OECC e o β -cariofileno mostraram resultados positivos, demonstrados pela baixa porcentagem de leucócitos na lavado intraperitoneal, onde esses resultados podem estar relacionados com a inibição da liberação de citocinas ou inibição de moléculas de adesão de leucócitos. Além de que esses estudos acima citados são indicativos de que os efeitos observados pelo OECC podem estar intrinsecamente relacionados à ação direta do β -cariofileno.

3.4.3 Permeabilidade vascular

Quando se compara o grupo controle salina ao grupo naive, este não recebendo nenhum tipo de administração de tratamento ou indução, observa-se que este último apresentou um percentual de absorvância 70,2% menor do que o salina. Já os grupos tratados com

indometacina, óleo essencial e sesquiterpeno apresentaram um valor respectivo de absorbância 70,3%, 59,4% e 64,3% menor em relação ao grupo salina. Sendo que estes três últimos apresentaram respostas semelhantes estatisticamente, representadas através da análise, com uma diferença não significativa (Figura 16).

Figura 16. Efeito do óleo essencial de *Croton campestris* e do β -cariofileno sobre a permeabilidade vascular.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). One-way ANOVA seguida do teste de Tukey. ^{a4} $p < 0,0001$ vs salina; *ns* = não significativa.

É amplamente afirmado que Azul de Evans liga-se fortemente a proteína plasmática albumina e que a sua quantificação pode ser utilizada para definir os aumentos da permeabilidade da barreira à albumina (NAGARAJA et al., 2008). A injeção intraperitoneal de carragenina neste modelo, provoca a liberação de mediadores que irão por conseguinte aumentar a permeabilidade vascular. Como consequência, o exsudato que se concentra na região inflamada é rico em mediadores, células e proteínas plasmáticas como a albumina (SILVA et al., 2011; PINHEIRO et al., 2013). Nesse processo ocorre a liberação de histamina e serotonina (BOUGHTON-SMITH et al., 1993), liberação prostaglandina e mobilização dos leucócitos (BUSNARDO et al., 2010), liberação de TNF- α , IL-1 β e óxido nítrico (NO) (HALICI et al., 2007; FELDMANN; MAINI, 2008; CODARRI et al., 2010).

Foi comprovado que o 1,8-cineol nas doses de 200 e 400 mg/Kg reduz a permeabilidade neste modelo (SANTOS; RAO, 2000). Logo o efeito observado pelo óleo essencial de *C. campestris* e o β -cariofileno, sugerem uma diminuição na liberação dos mediadores induzidos por carragenina tendo como resultado a diminuição da permeabilidade e de extravasamento de proteínas para o local afetado.

3.4.5 Granuloma

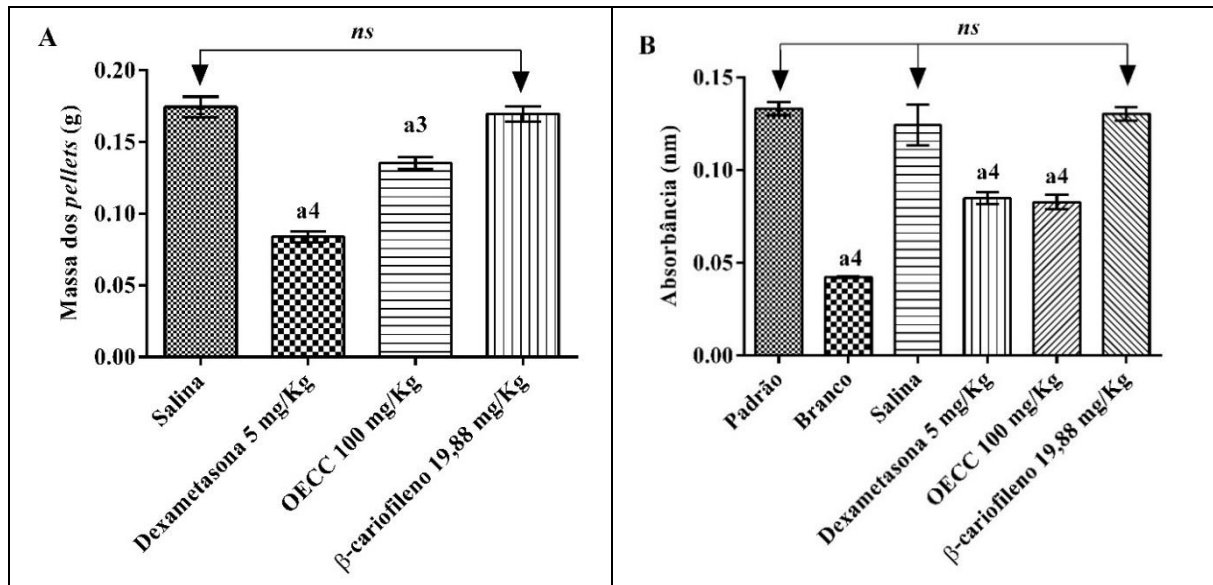
Quando os *pellets* foram pesados em balança analítica observou-se que os grupos tratados com dexametasona e o OECC 100 mg/Kg apresentaram uma massa (g) significativamente inferior ao grupo tratado com salina, onde essa diferença se expressou em *pellets* de massa 2,1 vezes menor que o grupo salina para a dexametasona e 1,3 vezes menor para o OECC 100 mg/Kg (Figura 17A).

Na análise da absorbância do homogenato dos *pellets* observou-se que os grupos tratados com dexametasona e OECC 100 mg/Kg apresentaram redução desta absorbância em 31,6% e 33,3% respectivamente quando em reação ao grupo salina, demonstrando um menor valor no número de proteínas totais desses grupos em relação ao controle. O grupo padrão, salina e β -cariofileno apresentaram valores de absorbância estatisticamente semelhantes, demonstrando que este último grupo apresentou concentração de proteínas totais similares ao grupo salina e Padrão, mostrando-se ineficiente em reduzir tais proteínas (Figura 17B).

O ensaio *in vivo* de granuloma induzido por *pellets* de algodão é amplamente utilizado para avaliar o desencadeamento do processo gradativo da inflamação crônica (SENGAR et al., 2015). A formação do granuloma é caracterizada por três fases, sendo elas as fases transudativa, exsudativa e proliferativa (BOONYARIKPUNCHAI et al., 2014). Na fase transudativa inicial que ocorre durante as três primeiras horas após a implantação dos *pellets*, ocorre aumento da permeabilidade vascular, onde os fluidos capilares tendem a envolver e preencher os *pellets*. A fase exsudativa ocorre a partir de 3 h às 72 h após implantação, onde ocorre a migração de proteínas em torno do granuloma. Por fim a fase proliferativa dura de 3 a 6 dias, durante o qual o tecido de granuloma se desenvolve como consequência da liberação de mediadores pró-inflamatórios (PINGSUSAEN et al., 2015).

A formação deste tecido é caracterizada por um aumento da síntese de colágeno e mucopolissacarídeos, penetração e proliferação de fibroblastos e por fim uma vascularização do tecido (HOSSEINZADEH et al., 2003). Logo, as alterações no peso seco do granuloma estão

Figura 17. Efeito do óleo essencial de *Croton campestris* e do β -cariofileno sobre o granuloma.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). (A) Massa dos pellets. (B) Absorbância do homogenato dos pellets. One-way ANOVA seguida do teste de Tukey. ^{a4}p < 0,0001 vs salina; ns - não significante.

relacionadas com intensificação ou atenuação na fase proliferativa do processo. Os AINEs e outros compostos com efeito antiproliferativo, diminuem o tecido granulomatoso, prevenindo a deposição das fibras de colágeno, supressão do mucopolissacarídeo e inibição da ativação de macrófagos (DAMRE et al., 2003; VERMA et al., 2010).

O 1,8-cineol reduziu o granuloma na dose de 400 mg/Kg (SANTOS; RAO, 2000). O óleo essencial de *Croton cajucara* na dose de 100 mg/Kg reduziu o granuloma representado pela diminuição da massa dos pellets (BIGHETTI et al., 1999). Tais informações são semelhantes aos dados elucidados na presente pesquisa, onde o OECC apresentou efeito na dose de 100 mg/Kg, apresentando redução na massa dos pellets secos e na redução das proteínas totais encontradas no homogenato, efeito este atribuído possivelmente a sua intervenção da migração proteica e de fibroblastos na fase proliferativa do processo, através do tratamento diário, mostrando dessa forma, seu envolvimento em um mecanismo crônico sistêmico de ação. Em contrapartida, o β -cariofileno não apresentou resultados positivos neste ensaio mostrando sua possível falha como potencial anti-inflamatório de ação crônica sistêmica. Relacionando

aos estudos anteriores, isso indica que provavelmente o efeito observado no OECC deve em grande parte ao constituinte 1,8-cineol.

3.5 Ensaios comportamentais

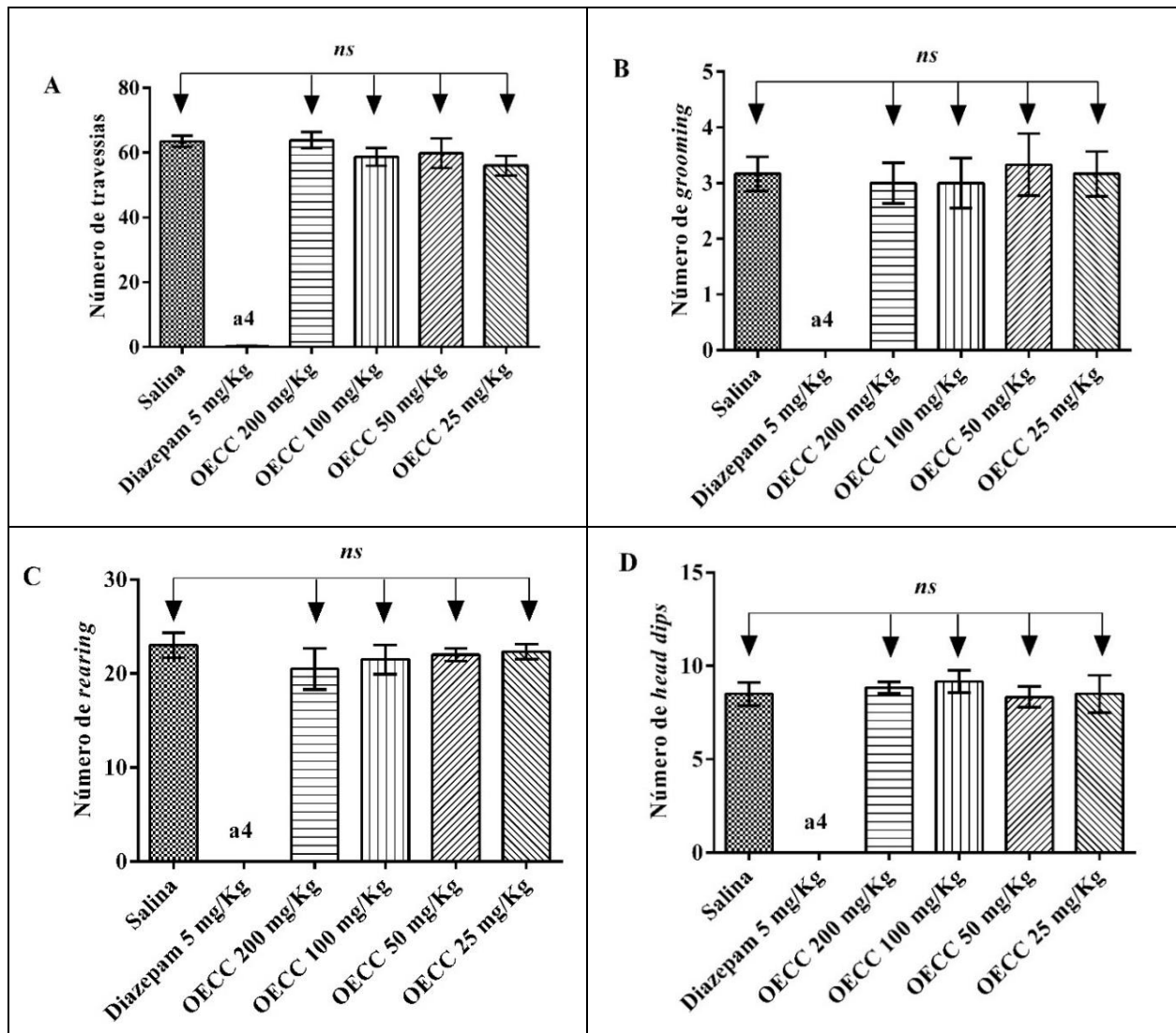
3.5.1 Campo aberto e Placa perfurada

Observou-se uma redução de 100% no número de comportamentos relacionados ao número de travessias no campo aberto, *grooming* (auto-limpeza), *rearing* (levantar, ou exploração vertical), *head dips* (imersão da cabeça nos orifícios da placa perfurada) nos grupos tratados com diazepam, enquanto entre todos os grupos tratados com óleo e o grupo salina, não houve diferença estatística (Figura 18 A, B, C).

O ensaio de campo aberto avalia parâmetros comportamentais relacionados à ansiedade, onde ao se deparar com um ambiente novo, o animal poderá apresentar diferentes comportamentos refletidos em estímulos de locomoção e exploração, contabilizadas pelo número de cruzamentos, *rearing* e *grooming* (LISTER, 1990; RAMOS et al., 1997; CAROLA et al., 2002; PRUT et al., 2003). Sendo que, alta locomoção reflete um efeito ansiolítico e uma diminuição exacerbada desses parâmetros refletem ação sedativa (RAMOS et al., 1997). No presente estudo, ao avaliar o número de cruzamentos, *grooming* e *rearing*, o OECC apresentou efeito semelhante estatisticamente ao grupo salina, enquanto o diazepam apresentou significativo e marcante efeito sedativo. Logo neste ensaio o OECC demonstrou a ausência ou pouca influência sobre reações comportamentais, que representam alterações nos parâmetros de ansiedade ou sedação, e principalmente ausência ou influência insignificante sobre a atividade locomotora.

No ensaio da placa perfurada, observou-se que apenas o diazepam, causou uma redução no número de imersões de cabeça, enquanto os grupos tratados com o óleo essencial, não mostraram diferença estatística do grupo salina (Figura 18D). A ocorrência de um aumento no número de explorações nos orifícios, deve ser interpretada como uma ação ansiolítica ocasionada pelo fármaco. A redução do índice de atividade exploratória, é ocasionada por fármacos em doses sedativas ou que induzem a ansiedade (FILE; PELLOW, 1985; TAKEDA et al., 1998). Isso sugere que o OECC apresentou uma influência insignificante sobre a atividade locomotora, ou ansiolítica, ansiogênica ou depressora do Sistema Nervoso Central (SNC).

Figura 18. Influência do óleo essencial de *Croton campestris* sobre parâmetros comportamentais em camundongos.

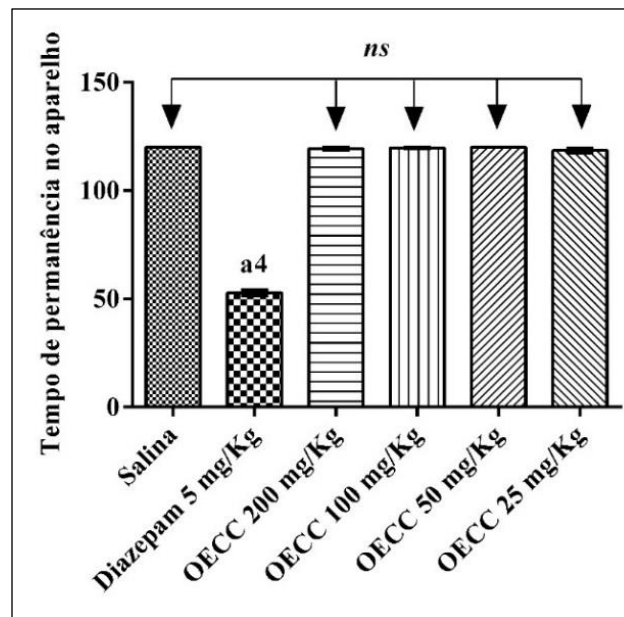


Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). (A) Número de cruzamentos no campo aberto. (B) Número de explorações verticais. (C) Número de auto-limpeza. (D) Número de imersões da cabeça nos orifícios da placa perfurada. One-way ANOVA seguida do teste de Tukey. ^{a4} $p < 0,0001$ vs salina; *ns* – não significativa.

3.6 Teste do *rota-rod*

No ensaio de *rota-rod* o grupo diazepam reduziu em 56% o tempo de permanência do animal no aparelho, enquanto o os grupos tratados com todas as concentrações em estudo do óleo, demonstrou semelhança ao grupo salina (Figura 19).

Figura 19. Influência do óleo essencial de *Croton campestris* sobre a coordenação motora, no ensaio de *rota-rod*.



Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). One-way ANOVA seguida do teste de Tukey. ^{a4} $p < 0,0001$ vs salina; *ns* – não significativa.

Os ansiolíticos, como efeito adverso, alteram a coordenação motora, podendo deprimir a transmissão na junção neuromuscular esquelética, comprometendo a execução de atividades (KATZUNG, 2008). O ensaio *rota-rod* é utilizado para avaliar o efeito de drogas sobre alterações na coordenação motora (DUNHAM; MIYA, 1957; DALLMEIER; CARLINI, 1981). Os resultados obtidos neste ensaio representam uma ausência de influência na atividade motora, ou alterações na coordenação motora, quando os animais são tratados com óleo essencial.

Substâncias de ação ansiolítica, depressoras do sistema nervoso central ou que comprometam a transmissão da junção neuromuscular, podem influenciar no padrões comportamentais dos animais em outros ensaios como formalina e contorções abdominais, resultando em dados de ação anti-inflamatória falso-positivos, o que não aconteceu, tendo em vista que o OECC não demonstrou ter influência sobre o SNC nos ensaios de modelo comportamental, demonstrando que o OECC apresentou um efeito anti-inflamatório genuíno nos ensaios que avaliaram a ação anti-inflamatória através de parâmetros comportamentais.

4. CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Croton campestris* A. St.-Hil e seu constituinte β -cariofileno, mostraram ação mais relevante na ação sistêmica, quando comparado aos ensaios de ação tópica. Nos modelos de avaliação efeito crônico o β -cariofileno não mostrou-se tão eficaz quanto o óleo essencial. De forma geral, o óleo essencial de *Croton campestris* A. St.-Hil e seu constituinte β -cariofileno mostraram-se eficientes agentes anti-inflamatórios.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oils components by gas chromatography/quadruple mass spectroscopy**. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, Illinois, 2007.
- AFSAR, T.; KHAN, M.R.; RAZAK, S.; ULLAH, S.; MIRZA, B. Antipyretic, anti-inflammatory and analgesic activity of *Acacia hydapica* R. Parker and its phytochemical analysis. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, p. 1-136, 2015.
- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINS-NETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p. 325–354, 2007.
- ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L. Kovats índices simulation in essential oil analysis. **Química Nova**, v. 13, p. 282-284, 1990.
- ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plantas com actividade analgésica central. **Phytomedicine**, v. 8, p. 310-322, 2001.
- ALMEIDA, T. S.; ROCHA, J. B. T.; RODRIGUES, F. F. G.; CAMPOS, A. R.; COSTA, J. G. M. Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of *Croton campestris* essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 630–633, 2013.
- BAHAMONDE, S. M. A.; FLORES, M. L.; CÓRDOBA, O. L.; TAIRA, C. A.; GORZALCZANY, S. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of an aqueous extract of *Chiliotrichum diffusum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 4, p. 699-705, 2013.
- BARROT, M. Tests and models of nociception and pain in rodents. **Neuroscience**, v. 1, n. 211, p. 39-50, 2012.
- BHUKYA, B.; ANREDDY, R. N. R.; WILLIAM, C. M.; GOTTUMUKKALA, K. M. Analgesic and anti-inflammatory activities of leaf extract of *Kydia calycina* Roxb. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 4, n. 2, p. 101-104, 2009.
- BIGHETTI, E. J. B.; HIRUMA-LIMA, C. A.; GRACIOSO, J. S.; BRITO, A. R. M. Antiinflammatory and antinociceptive effects in rodents of the essential oil of *Croton cajucara* Benth. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51, n. 12, p. 1447-1453, 1999.

BITENCOURT, M. A. O.; LIMA, M. C. J. S.; TORRES-RÊGO, M.; FERNANDES, J. M.; SILVA-JÚNIOR, A. A.; TAMBOURGI, D. V.; ZUCOLOTO, S. M.; FERNANDES-PEDROSA, M. Neutralizing effects of *Mimosa tenuiflora* extracts against inflammation caused by *Tityus serrulatus* scorpion venom. **Biomedical Research**, v. 2014, p. 890-895, 2014.

BOISSIER, J. R.; SIMON, P. A reação de exploração na mina. **Therapie**, v. 17, p. 1225-1232, 1962.

BOISSIER, J. R.; SIMON, P. Dissociation de deux composantes dans le compartiment d'investigation de la souris. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie**, v. 147, p. 372-387, 1964.

BOONYARIKPUNCHAI, W.; SUKRONG, S.; TOWIWAT, P. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid isolated from *Thunbergia laurifolia* Lindl. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, v. 124, p. 67-73, 2014.

BORGES, K. N.; BAUTISTA, H. P. Etnobotânica de Plantas Mediciniais na Comunidade de Cordoaria, Litoral Norte do Estado da Bahia, Brasil. **Plurais**, v. 1, n. 2, p. 153-174, 2010.

BOUGHTON-SMITH, N. K.; DEAKIN, A. M.; FOLLENFANT, R. L.; WHITTLE, B. J.; GARLAND, L. G. Role of oxygen radicals and arachidonic acid metabolites in the reverse passive Arthus reaction and carrageenin paw oedema in the rat. **British Journal of Pharmacology**, v. 110, n. 2, p. 896-902, 1993.

BRANDÃO, M. G. L.; PIGNAL, M.; ROMANIUC, S.; GRAEL, C. F. F.; FAGG, C. W. Useful Brazilian plants listed in the field books of the French naturalist Auguste de Saint-Hilaire (1779-1853). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 488-500, 2012.

BRITO-JÚNIOR, F. B.; OLIVEIRA, D. R.; BENTO, E. B.; LEMOS, I. C. S.; FIGUEIREDO, F. R. S. D. N.; MENEZES, I. R. A.; FERNANDES, G. P.; KERNTOPF, M. R. Investigação Etnofarmacológica dos Diferentes usos da Espécie *Croton Campestris* A. St.-Hil: Estudo Comparativo na Biorregião do Araripe. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 19, n. 4, p. 150-156, 2015.

BRITO-JÚNIOR, F. E.; MATIAS, E. F. F.; OLIVEIRA, D. R.; RAMOS, A. G. B.; FERNANDES, C. N. SOUZA, H. H. F.; LACERDA-NETO, L. J.; PEREIRA, A. O. B.; ARARUNA, M. K. A.; SANTOS, F. A. V.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A. Modulatory antibiotic activity and chemical

composition of hydroalcoholic extract of *Croton campestris*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 18, p. 4400-4404, 2011.

BRITO-JÚNIOR, F. E.; OLIVEIRA, D. R.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; KAMDEM, J. P.; MACEDO, G. E.; SILVA, G. F.; MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; KERNTOPF, M. R.; POSSER, T. Protective effects of *Croton campestris* A. St-Hill in different ulcer models in rodents: Evidence for the involvement of nitric oxide and prostaglandins. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 153, n. 2, p. 469-477, 2014.

BRITO-JÚNIOR, F. E.; OLIVEIRA, D. R.; BENTO, E. B.; LEITE, L. H. I.; SOUZA, D. O.; SIEBRA, A. L. A.; SAMPAIO, R. S.; MARTINS, A. O. P. B.; RAMOS, A. G. B.; TINTINO, S. R.; LACERDA-NETO, L. J.; FIGUEIREDO, P. R. L.; OLIVEIRA, L. R.; RODRIGUES, C. K. S.; SALES, V.; FIGUEIREDO, F. R. S. D. N.; NASCIMENTO, E. P.; MONTEIRO, A. B.; AMARO, E. N.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; KERNTOPF, M. R. Antiulcerogenic Activity of the Hydroalcoholic Extract of Leaves of *Croton campestris* A. St.-Hill in Rodents. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-10, 2013.

BUSNARDO, T. C.; PADOANI, C.; MORA, T. C.; BIAVATTI, M. W.; FRÖDE, T. S.; BÜRGER, C.; CLAUDINO, V. D.; DALMARCO, E. M.; SOUZA, M. M. Anti-inflammatory evaluation of *Coronopus didymus* in the pleurisy and paw oedema models in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, p. 519–525, 2010.

CAMPO, V. L.; KAWANO, D. F.; SILVA-JR, D. B.; CARVALHO, I. Carrageenams: Biological properties, chemical modifications and structural analyses – a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 167-180, 2009.

CAPDEVILA, S.; GIRAL, M.; RUIZ DE LA TORRE, J. L.; RUSSELL, R. J.; KRAMER, K. Acclimatization of rats after ground transportation to a new animal facility. **Laboratory Animals**, v. 41, p. 255-261, 2007.

CAROLA, V.; D'OLIMPIO, F.; BRUNAMONTI, E.; MANGIA, F.; RENZI, P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behavior in inbred mice. **Behavioural Brain Research**, v. 134, p. 49-57, 2002.

CHAVES, E. M. F.; BARROS, R. F. M. Diversidade e uso de recursos medicinais do carrasco na APA da Serra da Ibiapaba, Piauí, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 3, p. 476-486, 2012.

CHEN, Y. F.; TSAI, H. Y.; WU, T. S. Anti-inflammatory and analgesic activities from roots of *Angelica pubescens*. **Planta Medica**, v. 61, p. 2–8, 1995.

CHENG, S. M.; LAI, J. H.; YANG, S. P.; TSAO, T. P.; HO, L. J.; LIOU, J. T.; CHENG, C. C. Modulation of human T cells signaling transduction by lovastatin. **International Journal of Cardiology**, v. 140, p. 24-33, 2010.

CHO, J. Y.; CHANG, H. J.; LEE, S. K.; KIM, H. J.; HWANG, J. K.; CHUN, H. S. Amelioration of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by oral administration of β -caryophyllene, a sesquiterpene. **Life Sciences**, v. 80, p. 932-939, 2007.

CODARRI, L.; FONTANA, A.; BECHER, B. Cytokine networks in multiple sclerosis: lost in translation. **Current Opinion in Neurology**, v. 23, p. 205–211, 2010.

COELHO-DE-SOUZA, N.; LAHLOU, S.; BARRETO, J. E. F.; YUMA, M. E. M.; OLIVEIRA, A. C.; OLIVEIRA, H. D.; CELEDÔNIO, N. R.; FEITOSA, R. G. F.; DUARTEB, G. P.; SANTOS, C. F.; ALBUQUERQUE, A. A. C.; LEAL-CARDOSO, J. H. Essential oil of *Croton zehntneri* and its major constituent anethole display gastroprotective effect by increasing the surface mucous layer Andreлина. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 27, n. 3, p. 288-298, 2013.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura/Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1975.

COSTA-NETO, E. M.; OLIVEIRA, M. V. M. The use of medicinal plants in the country of Tanquinho, state of Bahia, North-eastern Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 2, n. 2, p. 1-8, 2000.

COUTINHO, H. D. M.; MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; SANTOS, F. A. V.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; SOUZA, T. M.; ANDRADE, J. C.; SOUZA, C. E. S.; TINTINO, S. R.; GUEDES, G. M. M.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; COSTA, J. G. M. Modulation of the norfloxacin resistance in *Staphylococcus aureus* by *Croton campestris* A. and *Ocimum gratissimum* L. **Biomédica**, v. 31, n. 4, p. 608-612, 2011.

CRAVEIRO, A. A.; ALENCAR, J. W.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L. The essential oil of *Croton adenocalyx* A. DC. **Journal of Essential Oil Research**, v. 2, p. 145–146, 1990.

DAHAM, S. S.; TABANA, M. Y.; AHAMED, M. B. K.; MAJID, A. M. S. A. *In vivo* anti-inflammatory activity of β -caryophyllene, evaluated by molecular imaging. **Molecules & Medicinal Chemistry**, v. 1, p. 1-6, 2015.

DALLMEIER, K.; CARLINI, E. A. Anesthetic, hypothermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues. **Pharmacology**, v. 22, p. 113-127, 1981.

DAMRE, A. A.; DAMRE, A. S.; SARAF, M. N. Evaluation of sesquiterpene lactone fraction of *Saussurea lappa* on transudative, exudative and proliferative phases of inflammation. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 7, p. 722–725, 2003.

DAMY, S. B.; CAMARGO, R. S.; CHAMMAS, R.; FIGUEIREDO, L. F. P. Aspectos fundamentais da experimentação animal - aplicações em cirurgia experimental. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, p. 103-111, 2010.

DANTAS, I. C. **O Raizeiro**. 1ª ed. Campina Grande: Eduerp, 2007, p. 539.

DE YOUNG, L. M.; KHEIFETS, J. B.; BALLARON, S. J.; YOUNG, J. M. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents and Actions**, v. 26, p. 335- 341, 1989.

DI SOTTO, A.; MAZZANTI, G.; CARBONE, F.; HRELIA, P.; MAFFEI, F. Inhibition by β -caryophyllene of ethyl methanesulfonate-induced clastogenicity in cultured human lymphocytes. **Mutation Research**, v. 699, p. 23–28, 2010.

DIMARTINO, M.; CAMPBELL, G. K. JR.; WOLFF, C. E.; HANNA, N. The pharmacology of arachidonic acid-induced rat paw edema. **Agents and actions**, v. 21, p. 303-305, 1987.

DONATI, M.; MONDIN, A.; CHEN, Z.; MIRANDA, F. M.; NASCIMENTO-JÚNIOR, B. B.; SCHIRATO, G.; PASTORE, P.; FROLDI, G. Radical scavenging and antimicrobial activities of *Croton zehntneri*, *Pterodon emarginatus* and *Schinopsis brasiliensis* essential oils and their major constituents: estragole, trans-anethole, β -caryophyllene and myrcene. **Natural Product Research**, v. 29, n. 10, p. 939-946, 2015.

DOURADO, R. C. M.; SILVEIRA, E. R. Preliminary investigation on the volatile constituents of *Croton sonderianus* Muell. Arg.: Habitat, plant part and harvest time variation. **Journal of Essential Oil Research**, v. 17, p. 36-40, 2005.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmacists Association**, v. 46, p. 208-209, 1957.

DUNKIĆ, V.; BEZIĆ, N.; VUKO, E. Antiphytoviral Activity of Essential Oil From Endemic Species *Teucrium Arduini*. **Natural Product Communications**, v. 6, n. 9, p. 1385-1388, 2011.

EL BABILI, F.; FABRE, N.; MOULIS, C.; FOURASTE, I. Molluscicidal activity against *Bulinus truncates* of *Croton campestris* A. St.-Hil. **Fitoterapia**, v. 77, p. 384-387, 2006.

EL BABILI, F.; FOURASTE, I.; MOULIS, C.; BESSIERE, J. M.; ROQUES, C.; HADDIOUI, L. Essential Oil of Leaves of *Croton campestris* St. Hilaire, Its Secretary Elements, and Its Biological Activity. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 3, p. 272-275, 2009.

EL BABILI, F.; ROQUES, C.; HADDIOUI, L.; BELLVERT, F.; BERTRAND, C.; CHATELAIN, C. Velamo do Campo: Its Volatile Constituents, Secretary Elements, and Biological Activity. **Journal of Medicinal Food**, v. 15, n. 7, p. 671-676, 2012.

ELENKOV, I. J.; CHROUSOS, G. P. Stress hormones, pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, and autoimmunity. **Annual New York Academy of Science**, v. 966, p. 290-303, 2002.

EL-SHENAWY, S. M.; ABDEL-SALAM, O. M.; BAIUOMY, A. R.; EL-BATRAN, S.; ARBID, M. S. Studies on the Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of melatonin in the rat. **Pharmacological Research**, v. 46, p. 235-243, 2002.

FASMER, O. B.; BERGE, O. G.; HOLE, K. Changes in nociception after lesions of descending serotonergic pathways induced with 5,6_dihydroxytryptamine. Different effects in the formalin and tail-flick tests. **Neuropharmacology**, v. 24, p. 129-134, 1985.

FELDMANN, M.; MAINI, S. R. Role of cytokines in rheumatoid arthritis: an education in pathophysiology and therapeutics. **Immunological Reviews**, v. 223, p. 7-19, 2008.

FERNANDES, E. S.; PASSOS, G. F.; MEDEIROS, R.; CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; CAMPOS, M. M.; PIANOWSKI, L. F.; CALIXTO, J. B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, v. 569, n. 3, p. 228-236, 2007.

FERREIRA, D. T. Sínteses e semi-sínteses de fármacos. In: ANDREI, C. C.; FERREIRA, D. T.; FACCIONE, M.; FARIA, T. J. **Da química medicinal à química combinatória e modelagem molecular**. 1 ed. São Paulo: Manole, p. 49-63, 2003.

- FILE, E. S.; PELLOW, S. The effects of triazolobenzodiazepines in two animal tests of anxiety and in the holeboard. **British Journal of Pharmacology**, v. 86, p. 729-735, 1985.
- FILLINGIM, R. B.; KING, C. D.; RIBEIRO-DASILVA, M. C.; RAHIM-WILLIAMS, B.; RILEY, J. L. Sex, gender, and pain: a review of recent clinical and experimental findings. **Journal of Pain**, v. 10, p. 447–485, 2009.
- FRANCO, E. A. P.; BARROS, R. F. M. Uso e diversidade de plantas medicinais no Quilombo Olho D'água dos Pires, Esperantina, Piauí. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 78-88, 2006.
- GARG, R.; RAMCHANDANI, A. G.; MARU, G. B. Curcumin decreases 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced protein kinase C translocation to modulate downstream targets in mouse skin. **Carcinogenesis**, v. 29, p. 1249–1257, 2008.
- GERTSCH, J.; LEONTI, M.; RADUNER, S.; RACZ, I.; CHEN, J. Z.; XIE, X. Q.; ALTMANN, K. H.; KARSAK, M.; ZIMMER, A. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 26, p. 9099–9104, 2008.
- GHELARDINI, C.; GALEOTTI, N.; MANNELLI, L. D. C.; MAZZANTI, G.; BARTOLINI, A. Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. **Farmaco**, v. 56, n. 5-7, p. 387–389, 2001.
- GHOSH, S.; SAHA, K.; DASGUPTA, S.; GOMES, A. *In vitro* and *in vivo* anti-arthritic and anti-inflammatory activity of *Bungarus fasciatus* venom. **Journal of Toxins**, v. 2, p. 1-5, 2015.
- GONÇALVES, D. O.; CALOU, I. B.; SIQUEIRA, R. P.; LOPES, A. A.; LEAL, L. K.; BRITO, G. A.; TOMÉ A. R.; VIANA, G. S. B. *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of lovastatin in rodents. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 2, p. 173–181, 2011.
- GOREN, A. C.; PIOZZI, F.; AKCICEK, E.; KILIÇ, T.; ÇARIKÇI, S.; MOZIOGLU, E.; SETZER, W. N. Essential oil composition of twenty-two *Stachys* species (mountain tea) and their biological activities. **Phytochemistry Letters**, v. 4, p. 448–453, 2011.
- GOVAERTS, R.; FRODIN, D. G.; RADCLIFFE-SMITH, A. **World checklist and bibliography of Euphorbiaceae (and Pandaceae)**. Royal Botanical Gardens, Kew, London, 2000. p.1621.
- GUTIERREZ, R. M. P. Evaluation of anti-inflammatory activity of the bark of *Eysenhardtia polystachya*. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 9, p. 230-236, 2015.

- HAIDER, S.; NAZREEN, S.; ALAM, M. M.; GUPTA, A.; HAMID, H.; ALAM, M. S. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of ethanolic extract and its various fractions from *Adiantum capillus veneris* Linn. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 138, p. 741-747, 2011.
- HALICI, Z.; DENGIZ, G. O.; ODABASOGLU, F.; SULEYMAN, H.; CADIRCI, E.; HALICI, M. Amiodarone has anti-inflammatory and anti-oxidative properties: an experimental study in rats with carrageenan-induced paw edema. **European Journal of Pharmacology**, v. 566, p. 215–221, 2007.
- HOSSEINZADEH, H.; HADDADKHODAPARAST, M. H.; ARASH, A. R. Antinociceptive, antiinflammatory and acute toxicity effects of *Salvia lerifolia* Benth. Seed extract in mice and rats. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 422–425, 2003.
- HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, p. 103–114, 1987.
- IKEDA, Y.; UENO, A.; NARABA, H.; OH-ISHI, S. Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanoids in the acid-induced writhing responses of mice. **Life Sciences**, v. 69, p. 2911–2919, 2001.
- INGER, L.; MEEK, I. I.; MART, A. F.; HARALD, E. V. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: an overview of cardiovascular risks. **Pharmaceuticals**, v. 3, p. 2146–2162, 2010.
- JOSHI, R. K. Chemical composition of the essential oil of *Croton bonplandianus* from India. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 2, p. 269-270, 2014.
- KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clínica**. McGraw Hill, Rio de Janeiro, Brasil, 2008, p. 1242.
- KIM, H.; ZAMEL, R.; BAI, X-H.; LIU, M. PKC Activation Induces Inflammatory Response and Cell Death in Human Bronchial Epithelial Cells. **PLoS One**, v. 8, n. 5, p. 1-12, 2013.
- KIM, H. D.; CHO, H. R.; MOON, S. B.; SHIN, H. D.; YANG, K. J.; PARK, B. R.; JANG, H. J.; KIM, L. S.; LEE, H. S.; KU, S. K. Effects of β -glucan from *Aureobasidium pullulans* on acute inflammation in mice. **Archives of Pharmacol Research**, v. 30, p. 323–328, 2007.
- KOROLKOVAS, A. **Essentials of Medicinal Chemistry**. 2ed. New York: Wiley, 1988.
- KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. **Robbins - Basic Pathology**. 9^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, p. 29-73, 2013.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Robbins & Cotran. Patologia – Bases patológicas das doenças**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 49–79, 2005.

LAPA, A. J. **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais**. UNIFESP/EPM, São Paulo, Brasil, p. 119, 2007.

LAVOR, A. K. L. S.; MATIAS, E. F. F.; ALVES, E. F.; SANTOS, B. S.; FIGUEREDO, F. G.; LIMA, L. F.; LEITE, N. F.; SOBRAL-SOUZA, C. E.; ANDRADE, J. C.; ALENCAR, J. B. B.; BRITO, D. I. V.; ALBUQUERQUE, R. S.; COUTINHO, H. D. M. Association between drugs and herbal products: *In vitro* enhancement of the antibiotic activity by fractions from leaves of *Croton campestris* A. (Euphorbiaceae). **European Journal of Integrative Medicine**, v. 6, n. 3, p. 301-306, 2014.

LEGAULT, J.; CÔTÉ, P. A.; OUELLET, S.; SIMARD, S.; PICHETTE, A. Iso-Caryophyllene Cytotoxicity Induced by Lipid Peroxidation and Membrane Permeabilization in L- 929 Cells. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 8, p. 25-31, 2013.

LIMA, M. C. J. S.; BITENCOURT, M. A. O.; FURTADO, A. A.; OLIVEIRA-ROCHA, H. A.; OLIVEIRA, R. M.; SILVA-JÚNIOR, A. A.; TABOSA, E. E. S.; TAMBOURGI, D. V.; ZUCOLOTTI, S. M.; FERNANDES-PEDROSA, M. F. *Ipomoea asarifolia* neutralizes inflammation induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom. **Journal of Ethnopharmacol**, v. 153, p. 890-895, 2014.

LIMA-ACCIOLY, P. M.; LAVOR-PORTO, P. R.; CAVALCANTE, F. S.; MAGALHÃES, P. J. C.; LAHLOU, S.; MORAIS, S. M.; LEAL-CARDOSO, J. H. Essential Oil Of *Croton Nepetaefolius* And Its Main Constituent, 1,8-Cineole, Block Excitability Of Rat Sciatic Nerve *In Vitro*. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 33, p. 1158–1163, 2006.

LISTER, G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 46, p. 321-340, 1990.

LOIZZO, M. R.; TUNDIS, R.; MENICHINI, F.; SAAB, A. M.; STATTI, G. A.; MENICHINI, F. Antiproliferative effects of essential oils and their major constituents in human renal adenocarcinoma and amelanotic melanoma cells. **Cell Proliferation**, v. 41, p. 1002-1012, 2008.

MALING, H. M.; WEBSTER, M. E.; WILLIAMS, M. A.; SAUL, W.; ANDERSON, W. JR. Inflammation induced by histamine, serotonin, bradykinin and compound 48-80 in the rat: antagonists and mechanisms of action. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 191, p. 300-310, 1974.

MALONE, M. H.; ROBICHAUD, R. C. A. Hippocratic screen for pure or crude drug materials. **Lloydia**, v. 25, p. 320-331, 1962.

MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; ALMEIDA, T. S.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Atividade antibacteriana *In vitro* de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 3, p. 294-298, 2010b.

MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Screening for *in vitro* phototoxic activity of methanol extracts of *Croton campestris* A., *Ocimum gravissimum* L. & *Cordia verbenaceae* DC. **Indian Journal of Medical Research**, v. 132, n. 5, p. 520-552, 2010a.

MATIAS, E. F.; SANTOS, K. K.; ALMEIDA, T. S.; COSTA, J. G.; COUTINHO, H. D. Phytochemical prospection and modulation of aminoglycoside antibiotic activity by *Croton campestris* A. **Chemotherapy**, v. 57, n. 4, p. 305-309, 2011.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771-776, 2010.

MELNIKOVA, I. Pain market. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, p. 589-590, 2010.

MOLLER, K. A.; BERGE, O.; HAMERS, F. P. T. Using the catwalk method to assess weight bearing and pain behavior in walking rats with ankle joint monoarthritis induced by carrageenan: Effects of morphine and rofecoxib. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 174, p. 1-9, 2008.

NAGARAJA, T. N.; KEENAN, K. A.; FENSTERMACHER, J. D.; KNIGHT, R. A. Acute Leakage Patterns of Fluorescent Plasma Flow Markers after Transient Focal Cerebral Ischemia Suggest Large Openings in Blood-Brain Barrier. **Microcirculation**, v. 15, n. 1, p. 1-14, 2008.

NECAS, J.; BARTOSIKOVA, L. Carrageenan: A Review. **Veterinary Medicine**, v. 58, p. 187-205, 2013.

OLIVEIRA, A. C.; LEAL-CARDOSO, J. H.; SANTOS, C. F.; MORAIS, S. M.; COELHO-DE-SOUZA, A. N. Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton zehntneri* in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n. 11, p. 1471-1474, 2001.

OLIVEIRA, I. G.; CARTAXO, S. L.; SILVA, M. A. P. Plantas Medicinais Utilizadas na Farmacopéia Popular em Crato, Juazeiro e Barbalha (Ceará, Brasil). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 1, p. 189-191, 2007.

OLIVEIRA-JÚNIOR, S. R.; CONCEIÇÃO, G. M. Espécies Vegetais Nativas Do Cerrado Utilizadas Como Medicinais Pela Comunidade Brejinho, Caxias, Maranhão, Brasil. **Cadernos de Geociências**, v. 7, n. 2, 2010.

PASSOS, G. F.; MEDEIROS, R.; MARCON, R.; NASCIMENTO, A. F.; CALIXTO, J. B.; PIANOWSKI, L. F. The role of PKC/ERK1/2 signaling in the anti-inflammatory effect of tetracyclic triterpene euphol on TPA-induced skin inflammation in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 698, p. 413-420, 2013.

PATEL, M.; MURUGANANTHAN, GOWDA, S. *In vivo* animal models in preclinical evaluation of anti-inflammatory activity - a review. **International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences**, v. 1, p. 1-5, 2012.

PAVÃO-DE-SOUZA, G. F.; ZARPELON, A. C.; TEDESCHI, G. C.; MIZOKAMI, S. S.; SANSON, J. S.; CUNHA, T. M.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q.; CASAGRANDE, R.; VERRI-JR, W. A. Acetic acid- and phenyl-p-benzoquinone-induced overt pain-like behavior depends on spinal activation of MAP kinases, PI3K and microglia in mice. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, v. 101, p. 320–328, 2012.

PAWLACZYK, I.; LEWIK-TSIRIGOTIS, M.; CAPEK, P.; MATULOVÁ, M.; SASINKOVÁ, V.; DĄBROWSKI, P.; WITKIEWICZ, W.; GANCARZ, R. Effects of extraction condition on structural features and anticoagulant activity of *F. vesca* L. conjugates. *Carbohydrate Polymers*, v. 92, p. 741–750, 2013.

PINGSUSAEN, P.; KUNANUSORN, P.; KHONSUNG, P.; CHIRANTHANUT, N.; PANTHONG, A.; RUJJANAWATE, C. Investigation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of *Stahlianthus involucratus* rhizome ethanol extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 162, p. 199–206, 2015.

PINHEIRO, M. M.; FERNANDES, S. B.; FINGOLO, C. E.; BOYLAN, F.; FERNANDES, P. D. Anti-inflammatory activity of ethanol extract and fractions from *Couroupita guianensis* Aublet leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, n. 1, p. 324-330, 2013.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, p. 3-33, 2003.

RABEHAJA, D. J.; IHANDRIHARISON, H.; RAMANOELINA, P. A.; BENJA, R.; RATSIMAMANGA-URVERG, S.; BIGHELLI, A.; CASANOVA, J.; TOMI, F. Chemical composition of the essential oil from *Croton kimosorum*, an endemic species to Madagascar. **Natural product communications**, v. 9, n. 1, p. 129-32, 2014.

- RADU, M.; CHERNOFF, J. An *in vivo* assay to test blood vessel permeability. **Journal of Visualized Experiments**, v. 73, p. 1-4, 2013.
- RAMOS, A.; BERTON, O.; PIERRE, M.; CHAULOFF, F. A multiple-test study of anxiety-related behaviors in six inbred rat strains. **Behavioral Brain Research**, v. 85, p. 57-69, 1997.
- RAMOS, J. M. O.; SANTOS, C. A.; SANTANA, D. G.; SANTOS, D. A.; ALVES, P. B.; THOMAZZI, S. M. Chemical constituents and potential anti-inflammatory activity of the essential oil from the leaves of *Croton argyrophyllus*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 4, p. 644-650, 2013.
- RIINA, R.; BERRY, P. E.; VAN EE, B. W. Molecular Phylogenetics of the Dragon's Blood *Croton* Section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae): A Polyphyletic Assemblage Unraveled. **Systematic Botany**, v. 34, n. 2, p. 360-374, 2009.
- ROCHA, F. F.; NEVES, E. M. N.; COSTA, E. A.; MATOS, L. G.; MÜLLER, A. H.; GUILHON, G. M. S. P.; CORTES, W. S.; VANDERLINDE, F. A. Evaluation of antinociceptive and antiinflammatory effects of *Croton pullei* var. *glabrior* Lanj. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, 2008.
- RZODKIEWICZ, P.; GASINSKA, E.; MASLINSKI, S.; BUJALSKA-ZADROZNY, M. Antinociceptive properties of esculetin in non-inflammatory and inflammatory models of pain in rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 42, n. 2, p. 213–219, 2014.
- SADEGHI, H.; HAJHASHEMI, V.; MINAIYAN, M.; MOVAHEDIAN, A.; TALEBI, A. A study on the mechanisms involving the anti-inflammatory effect of amitriptyline in carrageenan-induced paw edema in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 667, p. 396–401, 2011.
- SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 11-33, 2007.
- SANTOS, A. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F. J. C.; ROCHA-NETO, O. G. **Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Belém: EMBRAPA, Comunicado técnico. 2004.

SANTOS, F. A.; JEFERSON, F. A.; SANTOS, C. C.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S. N. Antinociceptive effect of leaf essential oil from *Croton sonderianus* in mice. **Life Sciences**, v. 77, n. 23, p. 2953–2963, 2005.

SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 240–244, 2000.

SARAIVA, R. A.; ARARUNA, M. K. A.; OLIVEIRA, R. C.; MENEZES K. D. P.; LEITE, G. O.; KERNTOPF, M. R.; COSTA, J. G. M.; ROCHA, J. B.; TOMÉ, A. R.; CAMPOS, A. R.; MENEZES, I. R. A. Topical anti-inflammatory effect of *Caryocar coriaceum* Wittm. (Caryocaraceae) fruit pulp fixed oil on mice ear edema induced by different irritant agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 504–510, 2011.

SARTORI, L. R.; FERREIRA, M. S.; PERAZZO, F. F.; MANDALHO LIMA, L.; CARVALHO, J. C. T. Atividade anti-inflamatória do granulado de *Calendula officinalis* L. e *Matricaria recutita* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 17-19, 2003.

SCHMIDT, S.; MOSER, M.; SPERANDIO, M. The molecular basis of leukocyte recruitment and its deficiencies. **Molecular Immunology**, v. 55, p. 49-58, 2013.

SENGAR, N.; JOSHI, A.; PRASAD, S. K.; HEMALATHA, S. Anti-inflammatory, analgesic and anti-pyretic activities of standardized root extract of *Jasminum sambac*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 160, p. 140–148, 2015.

SHANG, X.; WANG, J.; LI, M.; MIAO, X.; PAN, H.; YANG, Y.; WANG, Y. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Phlomis umbrosa* Turcz extract. **Fitoterapia**, v. 82, p. 716-721, 2011.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 18, n. 3, p. 385–405, 2004.

SILVA, F. R.; WISNIEWSKI-JUNIOR, A.; CECHINEL-FILHO, V.; NUNES, D. S. Chemical composition of essential oil from the bark of *Croton cajucara* Benth. **Acta Scientiarum**, v. 34, n. 3, p. 325-329, 2012b.

SILVA, F. V.; OLIVEIRA, I. S.; FIGUEIREDO, K. A.; JÚNIOR, F. B. M.; COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; AMARAL, M. P. M.; ALMEIDA, F. R. C.; OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA, R. C. M. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Sterculia striata* A. St.-Hil. & Naudin (Malvaceae) in rodents. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, p. 694–700, 2014.

SILVA, M. D.; GUGINSKI, G.; WERNER, M. F.; BAGGIO, C. H.; MARCON, R.; SANTOS, A. R. S. Involvement of Interleukin-10 in the anti-inflammatory effect of Sanyinjiao (SP6) acupuncture in a mouse modelo of peritonitis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1-9, 2011.

SILVA, N. C. B.; REGIS, A. C. D.; ESQUIBEL, M. A.; SANTOS, J. E. S.; ALMEIDA, M. Z. Uso de plantas medicinais na comunidade quilombola da Barra II – Bahia, Brasil. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 11, n. 5, p. 435-453, 2012a.

SILVA, P. Anti-inflamatórios não esteroides, analgésicos, antipiréticos e drogas utilizadas no tratamento da gota. In: CARVALHO, W. A. **Farmacologia**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 439-466, 2010.

SILVEIRA E SÁ, R.; ANDRADE, L.; OLIVEIRA, R.; SOUSA, D. A review on anti-inflammatory activity of phenylpropanoids found in essential oils. **Molecules**, v. 19, p. 1459–1480, 2014.

SIMIONATTO, E.; BONANI, V. F. L.; PERES, M. T. L. P.; HESS, S. C.; CANDIDO, A. C. S.; DIRAIMO, D. L.; POPPI, N. R.; MATOS, M. F. C.; SANTOS, E. C. S.; OGUMA, P. M.; CARVALHO, J. E. Bioactivity and chemical composition of the essential oils of *Croton urucurana* Baillon (*Euphorbiaceae*). **Journal of essential oil-bearing plants**, v. 12, p. 250-261, 2009.

SOLANKI, H. K.; SHAH, D. A.; MAHERIYA, P. M.; PATEL, C. A. Evaluation of anti-inflammatory activity of probiotic on carrageenan-induced paw edema in Wistar rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 1277-1282, 2015.

SOLDI, C.; PIZZOLATTI, M. G.; LUIZ, A. P.; MARCON, R.; MEOTTI, F. C.; MIOTO, L. A.; SANTOS, A. R. Synthetic Derivatives of the α - and β -Amyrin Triterpenes and Their Properties. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 3377-3386, 2008.

SOUZA, G. E. P.; CUNHA, F. Q.; MELLO, R.; FERREIRA, S. H. Neutrophil migration induced by inflammatory stimuli is reduced by macrophage depletion. **Agents and Actions**, v. 24, p. 377-380, 1988.

SPINDOLA, H. M.; VENDRAMINI-COSTA, D. B.; RODRIGUES JR., M. T.; FOGGIO, M. A.; PILLI, R. A.; CARVALHO, J. E. The antinociceptive activity of harmicine on chemical induced neurogenic and inflammatory pain models in mice. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, v. 102, p. 133–138, 2012.

STANLEY, P. L.; STEINER, S.; HAVENS, M.; TRAMPOSCH, K. M. Mouse skin inflammation induced by multiple topical applications of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 4, p. 262-271, 1991.

SUNITA, P.; JHA, S.; PATTANAYAK, S. P. Anti-inflammatory and in-vivo antioxidant activities of *Cressa critical* Linn., a halophytic plant. **Middle East Journal of Scientific Research**, v. 8, p. 129–140, 2011.

SWINGLE, K. F.; SHIDEMAN, F. E. Phases of inflammatory response to subcutaneous implantation of cotton pellet and other modifications by certain antiinflammatory agents. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 183, p. 226-234, 1972.

SYAM, S.; BUSTAMAM, A.; ABDULLAH, R.; SUKARI, M. A.; HASHIM, N. M.; MOHAN, S.; LOOI, C. Y.; WONG, W. F.; YAHAYU, M. A.; ABDELWAHAB, S. I. β Mangostin suppress LPS-induced inflammatory response in RAW 264.7 macrophages *in vitro* and carrageenan-induced peritonitis *in vivo*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 153, n. 2, p. 435-445, 2014.

SYLVESTRE, M.; PICHETTE, A.; LONGTIN, A.; NAGAU, F.; LEGAULT, J. Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 99-102, 2006.

TAESOTIKUL, T.; PANTHONG, A.; KANJANAPOTHI, D.; VERPOORTE, R.; SCHEFFER, J. J. C. Anti-inflammatory, antipyretic and antinociceptive activities of *Tabernaemontana pandacaqui* Poir. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 84, p. 31–33, 2003.

TAKEDA, H.; TSUJI, M.; MATSUMIYA, T. Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 350, p. 21-29, 1998.

TRIVELLATOGRASSI, L.; MALHEIROS, A.; MEYRE-SILVA, C.; BUSS, Z. S.; MONGUILHOTT, E. D.; FRÖDE, T. S.; SILVA, K. A.; SOUZA, M. M. From popular use to pharmacological validation: A study of the anti-inflammatory, anti-nociceptive and healing effects of *Chenopodium ambrosioides* extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, p. 127-138, 2013.

TUNG, Y. T.; CHUA, M. T.; WANG, S. Y.; CHANG, S. T. Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous Cinnamon (*Cinnamomun osmophloeum*) twigs. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3908–3913, 2008.

UDOBANG, J. A.; NWAFOR, P. A.; OKOKON, J. E. Analgesic and antimalarial activities of crude leaf extract and fractions of *Acalypha wilkensiana*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 373-338, 2010.

VALER, C. M.; WIIRZLER, L. A. M.; SILVA-FILHO, S. E.; CAVALCANTE, H. A. O.; SILVA-COMAR, F. M. S.; CUMAN, R. K. N. Anti-inflammatory Activity of the Essential Oil of *Croton zehntneri* and Its Main Constituent Estragole. **International Journal of Pharma And Chemical Research**, v. 2, n. 3, p. 188-193, 2016.

VASUDEVAN, M.; GUNNAM, K. K.; PARLE, M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Thespesia populnea* bark extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 264–270, 2007.

VEIGA-JUNIOR, V. F.; MELLO, J. C. P. As monografias sobre plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 464-471, 2008.

VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VERMA, S.; OJHA, S.; RAISH, M. Anti-inflammatory activity of *Aconitum heterophyllum* on cotton pellet-induced granuloma in rats. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, p. 1566-1569, 2010.

VIJAYALAXMI, A.; VASUDHA, B.; NAZIA, B.; KOWMUDI, V.; NAVEEN, K. Y.; YOGESH, R. Anti-arthritic and anti inflammatory activity of beta caryophyllene against Freund's complete adjuvant induced arthritis in wistar rats. **Journal of Bone Reports & Recommendations**, v. 1, n. 2-9, p. 1-9, 2015.

VUNDA, S. L.; SAUTER, I. P.; CIBULSKI, S. P.; ROEHE, P. M.; BORDIGNON, S. A.; ROTT, M. B.; APEL, M. A.; VON POSER, G. L. Chemical composition and amoebicidal activity of *Croton pallidulus*, *Croton ericoides*, and *Croton isabelli* (Euphorbiaceae) essential oils. **Parasitology Research**, v. 111, n. 3, p. 961-966, 2012.

WEBSTER, G. L. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 81, p. 33-144, 1994.

WERMUTH, C. G. Strategies in the search for new leads compounds or original working hypothesis. In: WERMUTH, C. G. **The Practice of Medicinal Chemistry**. 2ed. San Diego: Academic Press, 2003, p. 69-89.

WISE, L. E.; CANNAVACIULO, R.; CRAVATT, B. F.; MARTIN, B. F.; LITCHMAN, A. H. Evaluation of fatty amides in the carrageenan-induced paw edema model. **Neuropharmacology**, v. 54, p. 181, 2008.

WOOLFE, G.; MACDONALD, A. D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 80, p. 300–307, 1944.

XIMENES, R. M.; NOGUEIRA, L. M.; CASSUNDÉ, N. M.; JORGE, R. J.; SANTOS, S. M.; MAGALHÃES, L. P.; SILVA, M. R.; BARROS-VIANA, G. S.; ARAÚJO, R. M.; SENA, K. X.; ALBUQUERQUE, J. F.; MARTINS, R. D. Antinociceptive and wound healing activities of *Croton adamantinus* Müll. Arg. essential oil. **Journal of Natural Medicines**, v. 67, n. 4, p. 758-764, 2013.

ZHANG, B.; LI, J. B.; ZHANG, D. M.; DING, Y.; DU, G. H. Analgesic and anti-inflammatory activities of a fraction rich in gaultherin isolated from *Gaultheria yunnanensis* (FRANCH.) REHDER. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, p. 465–469, 2007.

O presente estudo identificou o β -cariofileno como um dos constituintes majoritários do óleo essencial de *Croton campestris*, indo ao encontro com estudos realizados por Almeida e colaboradores (2013).

Diversas espécies do gênero *Croton* apresentam na constituição de seus óleos essenciais o composto β -cariofileno: *Croton cajucara* (SILVA et al., 2012), *Croton isabelli* (VUNDA et al., 2012), *Croton bonplandianus* (JOSHI, 2014) e *Croton zehntneri* (DONATI et al., 2015). Em alguns estudos, a análise da composição de outras espécies *Croton* revelou a presença tanto do β -cariofileno, como do 1,8-cineol, como é o caso do *Croton nepetaefolius* (LIMA-ACCIOLY et al., 2006), *Croton zehntneri* (COELHO-DE-SOUZA et al., 2013), *Croton adamantinus* (XIMENES et al., 2013) e *Croton kimosorum* (RABEHAJA et al., 2014).

O OECC não apresentou toxicidade avaliada no tratamento oral, mostrando-se como um candidato relevante no desenvolvimento de fármacos, já que nesse processo, um dos requisitos importantes na qualidade de fármacos inclui aliar alta eficácia com baixa toxicidade e efeitos adversos (KOROLKOVAS, 1988; FERREIRA, 2003; WERMUTH, 2003).

No ensaio de edema de orelha induzido por óleo de cróton, O OECC não apresentou efeito anti-inflamatório muito significativo, tanto no edema agudo como crônico. O mesmo se aplica ao sesquiterpeno em estudo. Essa falta de envolvimento na ação tópica pode estar relacionada a ausência ou pouco envolvimento na ação direta sobre a fosfolipase A2, já que ocorre indução desta enzima pela indução do TPA, presente no óleo de cróton (GARG et al., 2008).

O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético não avalia apenas a dor, mas também o processo inflamatório, já que esse agente flogístico atua indiretamente induzindo a liberação de mediadores pró-inflamatórios que sensibilizam os nociceptores (BARROT, 2012).

Logo as substâncias testadas no presente trabalho, possivelmente podem ter apresentado sua efetividade ao inibir a ação da cicloxigenase e por conseguinte, inibição da síntese de prostaglandinas, ou ainda inibindo a liberação de mediadores inflamatórios, como substância P, bradicinina, histamina, serotonina, citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , IL -1 β , e IL-8, estas liberadas após o estímulo nocivo do ácido acético (RADU; CHERNOFF, 2013; BAHAMONDE et al., 2013).

Dentre as espécies que também apresentaram resultados significantes neste ensaio pode-se citar o óleo essencial de *Croton cajucara* (BIGHETTI et al., 1999), *Croton sonderianus* que também apresenta como constituintes o β -cariofileno e 1,8-cineol (SANTOS et al., 2005), *Croton adamantinus* que apresenta em sua constituição o β -cariofileno e 1,8-cineol (XIMENES et al., 2013). Estudos com o composto 1,8-cineol revelou uma ação efetiva na redução das contorções abdominais (SANTOS; RAO, 2000), indicando novamente a participação desse constituinte nos resultados observados.

No ensaio da formalina, tanto o OECC como o β -cariofileno apresentaram ação significativa principalmente na fase inflamatória do ensaio. Resposta essa comparável às drogas como ácido acetilsalicílico, diclofenaco e indometacina, que agem nível periférico inibindo principalmente a fase tardia (ALMEIDA et al., 2001; UDOBANG et al., 2010). A ação das substâncias em estudo, pode decorrer da inibição da liberação de aminas vasoativas, cininas e metabolitos da COX-2 e por conseguinte inibição da sensibilização dos nociceptores, atuando a nível periférico (ALMEIDA et al., 2001; UDOBANG et al., 2010; BARROT, 2012).

Diversas espécies do gênero *Croton* apresentaram resultados positivos neste ensaio, como *Croton zehntneri* (OLIVEIRA et al., 2001), *Croton sonderianus* que apresenta o β -cariofileno e 1,8-cineol em sua constituição (SANTOS et al., 2005) e *Croton adamantinus* também apresenta como um de seus constituintes o β -cariofileno e 1,8-cineol (XIMENES et al., 2013), sugerindo uma relação direta entre a presença desses compostos e a atividade anti-inflamatória apresentada.

No edema de pata induzido por carragenina, um clássico modelo de inflamação aguda, o efeito observado pelo OECC e β -cariofileno pode decorrer da inibição de liberação de mediadores como histamina, serotonina e bradicinina, induzidos pela aplicação de carragenina (BHUKYA et al., 2009). Ou ainda através da inibição da liberação de citocinas pró-inflamatórias tais como TNF- α e IL-1 β , bem como óxido nítrico (HALICI et al., 2007; FELDMANN; MAINI, 2008; CODARRI et al., 2010). A inibição da produção de prostaglandina E2, inibe a permeabilidade vascular e conseqüentemente reduz o edema (BOUGHTON-SMITH et al., 1993; BUSNARDO et al., 2010). O OECC e o β -cariofileno em todas as doses testadas, reduziram significativamente o edema durante a fase de pico de ação desse agente flogístico, que ocorreu na terceira hora de avaliação.

Óleos essenciais de diversas espécies, apresentaram atividade anti-inflamatória comprovada frente ao edema de pata induzido por carragenina, tais como *Croton argyrophyllus*

(RAMOS et al., 2013) e *Croton cajucara* (BIGHETTI et al., 1999), este possuindo o β -cariofileno como parte de sua constituição (SILVA et al., 2012; RAMOS et al., 2013).

Dahham et al. (2015), evidenciou que o β -cariofileno foi eficiente na redução do edema neste modelo e na análise de varredura de tomografia molecular revelou um nível de fluorescência menor, no grupo tratado com o sesquiterpeno.

Em concordância com os dados acima, outro estudo comprovou que o β -cariofileno reduziu o edema induzido por carragenina, além de inibir os níveis de TNF- α , PGE2, iNOs e COX-2 na região intra-plantar edemaciada (FERNANDES et al., 2007). Em outros estudos, o 1,8-cineol também mostrou-se efetivo neste modelo (SANTOS; RAO, 2000).

Dessa forma, todos esses estudos citados, vão ao encontro dos dados revelados no presente trabalho, sendo que os constituintes majoritários do OECC podem ter uma influência direta no efeito demonstrado pelo óleo essencial.

Cho e colaboradores (2007), mostraram em seus estudos que o β -cariofileno reduziu a colite induzida por dextrana, além de reduzir o RNAm de expressão do IL-6, e por conseguinte, a concentração direta de IL-6. O efeito significativo de redução do edema apresentado tanto pelo OECC como pelo constituinte majoritário, no momento de pico da dextrana, indica uma possível inibição liberação de aminas vasoativas como histamina, liberada pela degranulação mastocitária com a indução da dextrana (SARTORI et al., 2003; SILVA et al., 2014). Ou pode ainda seus resultados estarem associados a inibição da expressão de citocina IL-6 como no estudo acima citado.

A inibição do edema induzido por ácido araquidônico pelo OECC e β -cariofileno neste ensaio, deve-se possivelmente a inibição de enzimas como a cicloxigenase, e como consequência, inibição de síntese de prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos (SILVA, 2010; KIM et al., 2013). Mecanismo este apresentado pelos AINEs como aspirina e o diclofenaco (CHEN et al., 1995; ELENKOV; CHROUSOS, 2002; WISE et al., 2008).

Fernandes et al. (2007), demonstrou que o β -cariofileno não foi capaz de reduzir o edema induzido por histamina. No entanto os dados aqui obtidos, tendem a discordar, tendo em vista os resultados obtidos tanto pelo OECC como pelo β -cariofileno, onde possivelmente houve inibição da ação da histamina, reduzindo diretamente o edema, já que a histamina juntamente com a serotonina, causam um aumento da permeabilidade vascular, facilitando a passagem de neutrófilos e de plasma para o local inflamado (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; VASUDEVAN et al., 2007; KUMAR et al., 2013).

No ensaio de peritonite induzida por carragenina, óleos essenciais de espécies como *Croton argyrophyllus* (RAMOS et al., 2013) e *Croton zehntneri* (VALER et al., 2016), este último apresentando β -cariofileno e 1,8-cineol, reduziram significativamente a migração leucocitária em relação ao controle. Já o óleo essencial de *Croton cajucara* não apresentou efeito significativo (BIGHETTI et al., 1999).

O OECC e o β -cariofileno mostraram resultados positivos, demonstrados pela baixa porcentagem de leucócitos no lavado intraperitoneal, onde esses resultados podem estar relacionados com a inibição da liberação de prostanóides, e, por conseguinte, a vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular, dificultando o movimento dos neutrófilos para a cavidade peritoneal; ou inibindo as citocinas TNF- α , IL-1 β , IL-8, e por conseguinte, impedindo a expressão de moléculas de adesão endotelial, dificultando a diapedese de leucócitos (GONÇALVES et al., 2011; BITENCOURT et al., 2014; LIMA et al., 2014; RZODKIEWICZ et al., 2014; SYAM et al., 2014).

Foi comprovado que o 1,8-cineol reduz a permeabilidade vascular induzida por carragenina (SANTOS; RAO, 2000). Logo, o efeito observado pelo óleo essencial de *C. campestris* e o β -cariofileno, sugere uma diminuição na liberação de histamina, serotonina e prostaglandina, prevenindo a permeabilidade vascular (BOUGHTON-SMITH et al., 1993; BUSNARDO et al., 2010). Com efeito, isso reduzirá o exsudato rico em mediadores, células e proteínas plasmáticas como a albumina, proteínas estas que estariam ligadas ao Azul de Evans (NAGARAJA et al., 2008; SILVA et al., 2011; PINHEIRO et al., 2013).

No ensaio de granuloma, estudos revelaram que o 1,8-cineol (SANTOS; RAO, 2000) e o óleo essencial de *Croton cajucara* (BIGHETTI et al., 1999) reduziram o granuloma representado pela diminuição da massa dos *pellets*. Tais informações são semelhantes aos dados da presente pesquisa, onde o OECC apresentou redução significativa da massa dos *pellets* secos, além de reduzir as proteínas totais avaliadas no homogenato dos *pellets*. Esse efeito pode ser atribuído a inibição da migração proteica e dos processos decorrentes da fase proliferativa, como da síntese de colágeno e mucopolissacarídeos, penetração e proliferação de fibroblastos e vascularização tecidual (DAMRE et al., 2003; HOSSEINZADEH et al., 2003; VERMA et al., 2010; PINGSUSAEN et al., 2015). Isso demonstra um envolvimento do OECC na ação crônica sistêmica, envolvimento este não observado pelo β -cariofileno que não apresentou resultados positivos neste ensaio.

Ao avaliar os ensaios comportamentais de campo aberto e placa perfurada, observa-se que o tratamento com o OECC demonstrou a ausência ou pouca influência sobre reações

comportamentais, que representam alterações nos parâmetros de ansiedade ou sedação, e principalmente ausência de influência sobre a atividade locomotora, uma vez que o aumento da locomoção no campo aberto reflete um efeito ansiolítico e uma diminuição exacerbada da locomoção reflete uma ação sedativa (RAMOS et al., 1997). Na placa perfurada, o maior número de explorações nos orifícios é decorrente da ação ansiolítica ocasionada pelo fármaco, enquanto que a redução do índice de atividade exploratória, é ocasionada por fármacos em doses sedativas ou que induzem a ansiedade (FILE; PELLOW, 1985; TAKEDA et al., 1998). Porém, o que se observa no grupo OECC, são apenas padrões comportamentais semelhantes estatisticamente ao grupo salina.

Os resultados obtidos no ensaio *rota-rod*, representam a ausência de influência na atividade motora, ou alterações na coordenação motora, quando os animais são tratados com óleo essencial, já que este grupo apresentou parâmetros similares estatisticamente ao grupo salina. Os ansiolíticos, como efeito adverso, alteram a coordenação motora, comprometendo a execução precisa de movimentos (KATZUNG, 2008), o que foi observado com o grupo diazepam (DUNHAM; MIYA, 1957; DALLMEIER; CARLINI, 1981).

Tendo em vista que a ação do OECC não teve influência sobre o SNC nos ensaios de modelo comportamentais, fica demonstrado que o OECC apresentou um efeito anti-inflamatório genuíno nos ensaios que avaliaram a ação anti-inflamatória através de parâmetros comportamentais, tais como formalina e contorções abdominais, visto que substâncias de ação ansiolítica, depressoras do sistema nervoso central ou que comprometam a transmissão da junção neuromuscular, podem influenciar nos padrões comportamentais dos animais em outros ensaios, resultando em dados de ação anti-inflamatória falso-positivos, o que não aconteceu.

- O óleo essencial das folhas frescas de *Croton campestris* (OECC) apresenta como constituintes majoritários o β -cariofileno, 1,8-cineol e germacreno-D.
- O OECC não apresentou toxicidade na dose de 5000 mg/Kg no tratamento oral.
- Apenas o óleo essencial apresentou atividade tópica contra a inflamação aguda.
- O óleo essencial de *Croton campestris* e o β -cariofileno apresentaram ação anti-inflamatória sistêmica nos ensaios de triagem farmacológica da inflamação.
- Os efeitos positivos apresentados pelas substâncias testadas nos ensaios de mecanismo de edema de pata induzido por ácido araquidônico e histamina, sugerem que a via de ação do material em estudo está relacionada provavelmente com interação e bloqueio dos receptores de aminas vasoativas como a histamina e através da inibição da liberação de prostaglandina, provavelmente ao intervir a via de metabolização do ácido araquidônico pelas cicloxigenases.
- Os resultados positivos obtidos nos ensaios de peritonite e permeabilidade vascular compõe mais um indicativo de que OECC e o β -cariofileno interferiram na liberação e produção de prostaglandinas e citocinas ou expressão de moléculas de adesão leucocitária, dificultando a migração de leucócitos, refletida pela redução de linfócitos e monócitos analisados.
- Apenas o OECC apresentou eficácia sistêmica na inibição da inflamação crônica, provavelmente por sua intervenção da migração proteica na fase proliferativa. A

ausência de ação do β -cariofileno na inflamação crônica sugere que para, esta atividade, seja necessária a interação de outros constituintes presentes no óleo essencial.

- Em todos os ensaios de inflamação aguda, o β -cariofileno apresentou efeito anti-inflamatório, evidenciando o envolvimento do β -cariofileno na ação anti-inflamatória do óleo essencial.
- Foi comprovada a ausência de qualquer ação que causasse depressão do sistema nervoso central ou alteração na atividade motora, pelo OECC, validando os resultados positivos na ação anti-inflamatória em ensaios que usaram parâmetros comportamentais como base de análise da inflamação.

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier Saunders, p. 592, 2012.
- ADEFUYE, A.; SALES, K. Regulation of Inflammatory Pathways in Cancer and Infectious Disease of the Cervix. **Scientifica (Cairo)**, v. 2012, p. 1-8, 2012.
- AKTAN, F. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. **Life Sciences**, v. 75, n. 6, p. 639-653, 2004.
- ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 678-689, 2006.
- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINSNETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p. 325–354, 2007.
- ALDERTON, W. K.; COOPER, C. E.; KNOWLES, R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. **Biochemical Journal**, v. 357, p. 593–615, 2001.
- ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plantas com actividade analgésica central. **Phytomedicine**, v. 8, p. 310-322, 2001.
- ALMEIDA, T. S.; ROCHA, J. B. T.; RODRIGUES, F. F. G.; CAMPOS, A. R.; COSTA, J. G. M. Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of *Croton campestris* essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 630–633, 2013.
- ANDERSON, M. R.; BLUMER, J. L. Advances in the therapy for sepsis in children. **Pediatric Clinics of North America**, v. 44, p. 179-205, 1997.
- BAHAMONDE, S. M. A.; FLORES, M. L.; CÓRDOBA, O. L.; TAIRA, C. A.; GORZALCZANY, S. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of an aqueous extract of *Chiliodendron diffusum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 4, p. 699-705, 2013.
- BARROT, M. Tests and models of nociception and pain in rodents. **Neuroscience**, v. 1, n. 211, p. 39-50, 2012.

BERRY, P. E.; HIPPI, A. L.; WURDACK, K. J.; VAN, E. E. B.; RIINA, R. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotonaeae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and trnL-trnF sequence data. **American Journal of Botany**, v. 92, p. 1520–1534, 2005.

BHUKYA, B.; ANREDDY, R. N. R.; WILLIAM, C. M.; GOTTUMUKKALA, K. M. Analgesic and anti-inflammatory activities of leaf extract of *Kydia calycina* Roxb. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 4, n. 2, p. 101-104, 2009.

BIGHETTI, E. J. B.; HIRUMA-LIMA, C. A.; GRACIOSO, J. S.; BRITO, A. R. M. Antiinflammatory and antinociceptive effects in rodents of the essential oil of *Croton cajucara* Benth. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51, n. 12, p. 1447-1453, 1999.

BITENCOURT, M. A. O.; LIMA, M. C. J. S.; TORRES-RÊGO, M.; FERNANDES, J. M.; SILVA-JÚNIOR, A. A.; TAMBOURGI, D. V.; ZUCOLOTTO, S. M.; FERNANDES-PEDROSA, M. Neutralizing effects of *Mimosa tenuiflora* extracts against inflammation caused by *Tityus serrulatus* scorpion venom. **Biomedical Research**, v. 2014, p. 890-895, 2014.

BORGES, K. N.; BAUTISTA, H. P. Etnobotânica de Plantas Mediciniais na Comunidade de Cordoaria, Litoral Norte do Estado da Bahia, Brasil. **Plurais**, v. 1, n. 2, p. 153-174, 2010.

BORISH, L. C.; STEINKE, J. W. Cytokines and chemokines. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 111, n. 2, p. 460-475, 2003.

BOTTING, R. M. Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R. Vane (1927–2004). **Journal of Thermal Biology**, v. 31, p. 208-219, 2006.

BOUGHTON-SMITH, N. K.; DEAKIN, A. M.; FOLLENFANT, R. L.; WHITTLE, B. J.; GARLAND, L. G. Role of oxygen radicals and arachidonic acid metabolites in the reverse passive Arthus reaction and carrageenin paw oedema in the rat. **British Journal of Pharmacology**, v. 110, n. 2, p. 896-902. 1993.

BOWEI, A.; O'NEILL, L. A. Oxidative stress and nuclear factor-kappaB activation: a reassessment of the evidence in the light of recent discoveries. **Biochem Pharmacol**, v. 59, n. 1, p. 13-23, 2000.

BRANDÃO, M. G. L.; PIGNAL, M.; ROMANIUC, S.; GRAEL, C. F. F.; FAGG, C. W. Useful Brazilian plants listed in the field books of the French naturalist Auguste de Saint-Hilaire (1779–1853). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 488–500, 2012.

BRITO-JÚNIOR, F. B.; OLIVEIRA, D. R.; BENTO, E. B.; LEMOS, I. C. S.; FIGUEIREDO, F. R. S. D. N.; MENEZES, I. R. A.; FERNANDES, G. P.; KERNTOPF, M. R. Investigação Etnofarmacol gica dos Diferentes usos da Espécie *Croton Campestris* A. St.-Hil: Estudo Comparativo na Biorregi o do Araripe. **Ensaio e Ciência: Ciencias Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 19, n. 4, p. 150-156, 2015.

BRITO-JÚNIOR, F. E.; MATIAS, E. F. F.; OLIVEIRA, D. R.; RAMOS, A. G. B.; FERNANDES, C. N. SOUZA, H. H. F.; LACERDA-NETO, L. J.; PEREIRA, A. O. B.; ARARUNA, M. K. A.; SANTOS, F. A. V.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A. Modulatory antibiotic activity and chemical composition of hydroalcoholic extract of *Croton campestris*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 18, p. 4400-4404, 2011.

BRITO-JÚNIOR, F. E.; OLIVEIRA, D. R.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; KAMDEM, J. P.; MACEDO, G. E.; SILVA, G. F. MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; KERNTOPF, M. R.; POSSER, T. Protective effects of *Croton campestris* A. St-Hill in different ulcer models in rodents: Evidence for the involvement of nitric oxide and prostaglandins. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 153, n. 2, p. 469-477, 2014.

BRITO-JÚNIOR, F. E.; OLIVEIRA, D. R.; BENTO, E. B.; LEITE, L. H. I.; SOUZA, D. O.; SIEBRA, A. L. A.; SAMPAIO, R. S.; MARTINS, A. O. P. B.; RAMOS, A. G. B.; TINTINO, S. R.; LACERDA-NETO, L. J.; FIGUEIREDO, P. R. L.; OLIVEIRA, L. R.; RODRIGUES, C. K. S.; SALES, V.; FIGUEIREDO, F. R. S. D. N.; NASCIMENTO, E. P.; MONTEIRO, A. B.; AMARO, E. N.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; KERNTOPF, M. R. Antiulcerogenic Activity of the Hydroalcoholic Extract of Leaves of *Croton campestris* A. St.-Hill in Rodents. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-10, 2013.

BUCKLEY, C. D.; GILROY, D. W.; SERHAN, C. N. Proresolving lipid mediators and mechanisms in the resolution of acute inflammation. **Immunity**, v. 40, n. 3, p. 315-27. 2014.

BUCKLEY, C. D.; BARONE, F.; NAYAR, S.; B N ZECH, C.; CAAMA O J. Stromal cells in chronic inflammation and tertiary lymphoid organ formation. **Annual Review of Immunology**, v. 22, p. 715-745, 2015.

BUSNARDO, T. C.; PADOANI, C.; MORA, T. C.; BIAVATTI, M. W.; FR DE, T. S.; B RGER, C.; CLAUDINO, V. D.; DALMARCO, E. M.; SOUZA, M. M. Anti-inflammatory

evaluation of *Coronopus didymus* in the pleurisy and paw oedema models in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, p. 519–525, 2010.

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

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.

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

CARVALHO, W. A.; CARVALHO, R. D. S.; RIOS-SANTOS, F. Analgésicos inibidores específicos da ciclooxigenase-2: avanços terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 54, p. 448-464, 2004.

CHANG, C. Z.; WU, S. C.; LIN, C. L.; KWAN, A. L. Valproic acid attenuates intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin through a chemokine ligand 5 dependent mechanism and subarachnoid hemorrhage induced vasospasm in a rat model. **Journal of Inflammation (Lond)**, v. 27, p. 1-12, 2015.

CHAVES, E. M. F.; BARROS, R. F. M. Diversidade e uso de recursos medicinais do carrasco na APA da Serra da Ibiapaba, Piauí, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 3, p. 476-486, 2012.

CHEN, Y. F.; TSAI, H. Y.; WU, T. S. Anti-inflammatory and analgesic activities from roots of *Angelica pubescens*. **Planta Medica**, v. 61, p. 2–8, 1995.

CHENG, S. S.; WU, C. L.; CHANG, H. T.; KAO, Y. T.; CHANG, S. T. Antitermitic and antifungal activities of essential oil of *Calocedrus formosana* leaf and its composition. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 10, p. 1957-1967, 2004.

CHO, J. Y.; CHANG, H. J.; LEE, S. K.; KIM, H. J.; HWANG, J. K.; CHUN, H. S. Amelioration of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by oral administration of α -caryophyllene, a sesquiterpene. **Life Sciences**, v. 80, p. 932-939, 2007.

CLARK, A. K.; OLD, E. A.; MALCANGIO, M. Neuropathic pain and cytokines: current perspectives. **Journal of Pain Research**, v. 6, p. 803-814, 2013.

- CLARK, T. P. The clinical pharmacology of cyclooxygenase-2-selective and dual inhibitors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 36, p. 1061-1085, 2006.
- CODARRI, L.; FONTANA, A.; BECHER, B. Cytokine networks in multiple sclerosis: lost in translation. *Current Opinion in Neurology*, v. 23, p. 205–211, 2010.
- COELHO-DE-SOUZA, N.; LAHLOU, S.; BARRETO, J. E. F.; YUMA, M. E. M.; OLIVEIRA, A. C.; OLIVEIRA, H. D.; CELEDÔNIO, N. R.; FEITOSA, R. G. F.; DUARTEB, G. P.; SANTOS, C. F.; ALBUQUERQUE, A. A. C.; LEAL-CARDOSO, J. H. Essential oil of *Croton zehntneri* and its major constituent anethole display gastroprotective effect by increasing the surface mucous layer Andreolina. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, v. 27, n. 3, p. 288-298, 2013.
- COMINI-FROTA, E. R.; RODRIGUES, D. H.; MIRANDA, E. C.; BRUM, D. G.; KAIMENMACIEL, D. R.; DONADI, E. A.; TEIXEIRA, A. L. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with the number of T2 MRI lesions in multiple sclerosis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 45, n. 1, p. 68-71, 2012.
- CORDEIRO, K. W.; FELIPE, J. L.; MALANGE, K. F.; PRADO, P. R.; FIGUEIREDO, P. O.; GARCEZ, F. R.; FREITAS, K. C.; GARCEZ, W. S.; TOFFOLI-KADRI, M. C. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Croton urucurana* Baillon bark. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 183, p. 128-135, 2016.
- CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura/Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1975.
- COSTA-NETO, E. M.; OLIVEIRA, M. V. M. The use of medicinal plants in the country of Tanquinho, state of Bahia, North-eastern Brazil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 2, n. 2, p. 1-8, 2000.
- COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Patologia Estrutural e Funcional**. 7^a ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2006.
- COUPER, K. N.; BLOUNT, D. G.; RILEY, E. M. IL-10: the master regulator of immunity to infection. *Journal of Immunology*, v. 180, n. 9, p. 5771-5777, 2008.
- COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and câncer. *Nature*, v. 420, n. 6917, p. 860-867, 2002.

COUTINHO, H. D. M.; MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; SANTOS, F. A. V.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; SOUZA, T. M.; ANDRADE, J. C.; SOUZA, C. E. S.; TINTINO, S. R.; GUEDES, G. M. M.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; COSTA, J. G. M. Modulation of the norfloxacin resistance in *Staphylococcus aureus* by *Croton campestris* A. and *Ocimum gratissimum* L. **Biomédica**, v. 31, n. 4, p. 608-612, 2011.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G.; Natural Products (Secondary Metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds.) **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville Maryland: American Society of Plant Physiologists, p.1341, 2000.

CRUVINEL, W. M.; JÚNIOR, D. M.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S.; SILVA, N. P.; ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário - parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 4, p. 434-461, 2010.

CUNNEEN, J.; CARTWRIGHT, M. The puzzle of sepsis: fitting the pieces of the inflammatory response with treatment. **AACN Clinical Issues**, v. 15, n. 1, p. 18-44, 2004.

DAHAM, S. S.; TABANA, M. Y.; AHAMED, M. B. K.; MAJID, A. M. S. A. *In vivo* anti-inflammatory activity of β -caryophyllene, evaluated by molecular imaging. **Molecules & Medicinal Chemistry**, v. 1, p. 1-6, 2015.

DALLMEIER, K.; CARLINI, E. A. Anesthetic, hypothermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues. **Pharmacology**, v. 22, p. 113-127, 1981.

DAMRE, A. A.; DAMRE, A. S.; SARAF, M. N. Evaluation of sesquiterpene lactone fraction of *Saussurea lappa* on transudative, exudative and proliferative phases of inflammation. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 7, p. 722-725, 2003.

DANTAS, I. C. **O Raizeiro**. 1ª ed. Campina Grande: Eduap, 2007.

DEL VECCHIO, A.; LAFORGIA, N.; CAPASSO, M.; IOLASCON, A.; LATINI, G. The role of molecular genetics in the pathogenesis and diagnosis of neonatal sepsis. **Clinics in Perinatology**, v. 31, n. 1, p. 53-67, 2004.

DI SOTTO, A.; MAZZANTI, G.; CARBONE, F.; HRELIA, P.; MAFFEI, F. Inhibition by β -caryophyllene of ethyl methanesulfonate-induced clastogenicity in cultured human lymphocytes. **Mutation Research**, v. 699, p. 23-28, 2010.

DISTEFANO, G.; CURRERI, R.; BETTA, P.; ROMEO, M. G.; AMATO, M. Procalcitonin serum levels in perinatal bacterial and fungal infection of preterm infants. **Acta Paediatrica**, v. 93, p. 216-219, 2004.

DONATI, M.; MONDIN, A.; CHEN, Z.; MIRANDA, F. M.; NASCIMENTO-JÚNIOR, B. B.; SCHIRATO, G.; PASTORE, P.; FROLDI, G. Radical scavenging and antimicrobial activities of *Croton zehntneri*, *Pterodon emarginatus* and *Schinopsis brasiliensis* essential oils and their major constituents: estragole, trans-anethole, β -caryophyllene and myrcene. **Natural Product Research**, v. 29, n. 10, p. 939-946, 2015.

DOURADO, R. C. M.; SILVEIRA, E. R. Preliminary investigation on the volatile constituents of *Croton sonderianus* Muell. Arg.: Habitat, plant part and harvest time variation. **Journal of Essential Oil Research**, v. 17, p. 36-40, 2005.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmacists Association**, v. 46, p. 208-209, 1957.

DUNKIĆ, V.; BEZIĆ, N.; VUKO, E. Antiphytoviral Activity of Essential Oil From Endemic Species *Teucrium Arduini*. **Natural Product Communications**, v. 6, n. 9, p. 1385-1388, 2011.

EL BABILI, F.; FOURASTE, I.; MOULIS, C.; BESSIERE, J. M.; ROQUES, C.; HADDIOUI, L. Essential Oil of Leaves of *Croton campestris* St. Hilaire, Its Secretary Elements, and Its Biological Activity. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 3, p. 272-275, 2009.

EL BABILI, F.; ROQUES, C.; HADDIOUI, L.; BELLVERT, F.; BERTRAND, C.; CHATELAIN, C. Velamo do Campo: Its Volatile Constituents, Secretary Elements, and Biological Activity. **Journal of Medicinal Food**, v. 15, n. 7, p. 671-676, 2012.

ELENKOV, I. J.; CHROUSOS, G. P. Stress hormones, pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, and autoimmunity. **Annual New York Academy of Science**, v. 966, p. 290-303, 2002.

FELDMANN, M.; MAINI, S. R. Role of cytokines in rheumatoid arthritis: an education in pathophysiology and therapeutics. **Immunological Reviews**, v. 223, p. 7-19, 2008.

FERNANDES, E. S.; PASSOS, G. F.; MEDEIROS, R.; CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; CAMPOS, M. M.; PIANOWSKI, L. F.; CALIXTO, J. B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, v. 569, n. 3, p. 228-236, 2007.

FERREIRA, D. T. Sínteses e semi-sínteses de fármacos. In: ANDREI, C. C.; FERREIRA, D. T.; FACCIONE, M.; FARIA, T. J. **Da química medicinal à química combinatória e modelagem molecular**. 1 ed. São Paulo: Manole, p. 49-63, 2003.

FILE, E. S.; PELLOW, S. The effects of triazolobenzodiazepines in two animal tests of anxiety and in the holeboard. **British Journal of Pharmacology**, v. 86, p. 729-735, 1985.

FRANCISCHETTI, I.; MORENO, J. B.; SCHOLZ, M.; YOSHIDA, W. B. Leukocytes and the inflammatory response in ischemia-reperfusion injury. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 25, n. 4, p. 575-584, 2010.

FRANCO, D. G. Fator de transcrição nuclear Kappa B no sistema nervoso central: do fisiológico ao patológico. **Revista da Biologia**, v. 4, p. 35-39, 2010.

FRANCO, E. A. P.; BARROS, R. F. M. Uso e diversidade de plantas medicinais no Quilombo Olho D'água dos Pires, Esperantina, Piauí. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 78-88, 2006.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.

GAO, F.; KIESEWETTER, D.; CHANG, L.; RAPOPORT, S. I.; IGARASHI, M. Quantifying conversion of linoleic to arachidonic and other n-6 polyunsaturated fatty acids in unanesthetized rats. **Journal of Lipid Research**, v. 51, n. 10, p. 2940-2946, 2010.

GARG, R.; RAMCHANDANI, A. G.; MARU, G. B. Curcumin decreases 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced protein kinase C translocation to modulate downstream targets in mouse skin. **Carcinogenesis**, v. 29, p. 1249-1257, 2008.

GERTSCH, J.; LEONTI, M.; RADUNER, S.; RACZ, I.; CHEN, J. Z.; XIE, X. Q.; ALTMANN, K. H.; KARSAK, M.; ZIMMER, A. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 26, p. 9099-9104, 2008.

GHELARDINI, C.; GALEOTTI, N.; MANNELLI, L. D. C.; MAZZANTI, G.; BARTOLINI, A. Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. **Farmaco**, v. 56, n. 5-7, p. 387-389, 2001.

GILMAN, A. G.; GOODMAN, L. S.; RALL, T. W.; MURAD, F. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 11^a ed. Rio de Janeiro: Grow-Hill, 2006.

GODSON, C.; MITCHELL, S.; HARVEY, K.; PETASIS, N. A.; HOGG, N.; BRADY, H. R. Cutting edge: lipoxins rapidly stimulate nonphlogistic phagocytosis of apoptotic neutrophils by monocyte-derived macrophages. **Journal of Immunology**, v. 164, n. 4, p. 1663-1667, 2000.

GOMES, E. L. F. D.; COSTA, D. Evaluation of functional, autonomic and inflammatory outcomes in children with asthma. **World Journal of Clinical Cases**, v. 3, n. 3, p. 301-309, 2015.

GONÇALVES, D. O.; CALOU, I. B.; SIQUEIRA, R. P.; LOPES, A. A.; LEAL, L. K.; BRITO, G. A.; TOMÉ A. R.; VIANA, G. S. B. *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of lovastatin in rodents. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 2, p. 173–181, 2011.

GONCHAROVA, L. B.; TARAKANOV, A. O. Molecular networks of brain and immunity. **Brain Research Reviews**, v. 55, p. 155-166, 2007.

GOODMAN, L.; TORRES, B.; PUNKE, J.; REYNOLDS, L.; SPEAS, A.; ELLIS, A.; BUDSBERG, S. Effects of firocoxib and tepoxalin on healing in a canine gastric mucosal injury model. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, p. 56-62, 2009.

GOREN, A. C.; PIOZZI, F.; AKCICEK, E.; KILIÇ, T.; ÇARIKÇI, S.; MOZIOGLU, E.; SETZER, W. N. Essential oil composition of twenty-two *Stachys* species (mountain tea) and their biological activities. **Phytochemistry Letters**, v. 4, p. 448–453, 2011.

GUERREIRO, R.; SANTOS-COSTA, Q.; AZEVEDO-PEREIRA, J. M. As quimiocinas e os seus receptores. **Acta Medica Portuguesa**, v. 24, n. 4, p. 967-976, 2011.

GUIMARÃES, L. A. C. **O gênero *Croton* L. seção *Cyclostigma* Griseb. e seção *Luntia* (Raf.) G. L. Webster (Euphorbiaceae) ocorrentes na Amazônia Brasileira**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 70p. 2006.

HALICI, Z.; DENGIZ, G. O.; ODABASOGLU, F.; SULEYMAN, H.; CADIRCI, E.; HALICI, M. Amiodarone has anti-inflammatory and anti-oxidative properties: an experimental study in rats with carrageenan-induced paw edema. **European Journal of Pharmacology**, v. 566, p. 215–221, 2007.

HARBORNE, J. B.; TOMAS-BARBERAN F. A. **Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids**. Oxford University Press, New York, 1991, p. 439.

HARREWIJN, P.; VAN OOSTEN, A. M.; PIRON, P. G. M. **Natural terpenoids as messengers: a multidisciplinary study of their production, biological functions, and practical applications.** Kluwer Academic Publishers, p. 440, 2001.

HAZEWINKEL, H. A. W.; VAN DEN BROM, W. E.; THEYSE, L. F. H.; POLLMEIER, M.; HANSON, P. D. Comparison of the effects of firocoxib, carprofen and vedaprofen in a sodium urate crystal induced synovitis model of arthritis in dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 84, p. 74-79, 2008.

HILÁRIO, M. O. E.; TERRERI, M. T.; LEN, C. A. Antiinflamatórios não-hormonais: inibidores da ciclooxigenase 2. **Journal of Pediatrics**, v. 82, n. 5, 2006.

HOSSEINZADEH, H.; HADDADKHODAPARAST, M. H.; ARASH, A. R. Antinociceptive, antiinflammatory and acute toxicity effects of *Salvia lerifolia* Benth. Seed extract in mice and rats. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 422-425, 2003.

HOWARD, M.; O'GARRA, A. Biological properties of interleukin 10. **Immunology Today**, v. 13, n. 6, p. 198-200, 1992.

IDZKO, M.; LA SALA, A.; FERRARI, D.; PANTHER, E.; HEROUY, Y.; DICHMANN, S.; MOCKENHAUPT, M.; DI VIRGILIO, F.; GIROLOMONI, G.; NORGAEUER, J. Expression and function of histamine receptors in human monocyte-derived dendritic cells. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 109, n. 5, p. 839-846, 2002.

JAYAPRAKASHA, G. K.; RAO, L. J. M.; SAKARIAH, K. K. Volatile Constituents from *Cinnamomum zeylanicum* Fruit Stalks and Their Antioxidant Activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 15, p. 4344-4348, 2003.

JOSHI, R. K. Chemical composition of the essential oil of *Croton bonplandianus* from India. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 2, p. 269-270, 2014.

JUTEL, M.; AKDIS, M.; AKDIS, C. A. Histamine, histamine receptors and their role in immune pathology. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 39, n. 12, p. 1786-1800, 2009.

KARTAL, E. D.; KARKAC, E.; GULBAS, Z.; ALPAT, S. N.; ERBEN, N.; COLAK, E. Several Cytokines and Protein C Levels with the Apache II Scoring System for Evaluation of Patients with Sepsis. **Balkan Medical Journal**, v. 29, n. 2, p. 174-178, 2012.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clínica.** McGraw Hill, Rio de Janeiro, Brasil, 2008, p. 1242.

KAWAHARA, K.; HOHJOH, H.; INAZUMI, T.; TSUCHIYA, S.; SUGIMOTO, Y. Prostaglandin E2-induced inflammation: Relevance of prostaglandin E receptors. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 51, n. 4, p. 414-421, 2015.

KIM, H.; ZAMEL, R.; BAI, X-H.; LIU, M. PKC Activation Induces Inflammatory Response and Cell Death in Human Bronchial Epithelial Cells. **PLoS One**, v. 8, n. 5, p. 1-12, 2013.

KOROLKOVAS, A. **Essentials of Medicinal Chemistry**. 2ed. New York: Wiley, 1988.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. **Robbins - Basic Pathology**. 9^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, p. 29-73, 2013.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Robbins & Cotran. Patologia – Bases patológicas das doenças**. 7^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 49–79, 2005.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Anti-inflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase II (COX II): aspectos atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 5, n. 4, 2002.

KVATERNICK, V.; POLLMEIER, M.; FISCHER, J.; HANSON, P. D. Pharmacokinetics and metabolism of orally administered firocoxib, a novel second generation coxib, in horses. **Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutics**, v. 30, p. 208-217, 2007.

LAVOR, A. K. L. S.; MATIAS, E. F. F.; ALVES, E. F.; SANTOS, B. S.; FIGUEREDO, F. G.; LIMA, L. F.; LEITE, N. F.; SOBRAL-SOUZA, C. E.; ANDRADE, J. C.; ALENCAR, J. B. B.; BRITO, D. I. V.; ALBUQUERQUE, R. S.; COUTINHO, H. D. M. Association between drugs and herbal products: *In vitro* enhancement of the antibiotic activity by fractions from leaves of *Croton campestris* A. (Euphorbiaceae). **European Journal of Integrative Medicine**, v. 6, n. 3, p. 301-306, 2014.

LAWRENCE, T.; WILLOUGHBY, D. A.; GILROY, D. W. Anti-inflammatory Lipid Mediators and Insights into the Resolution of Inflammation. **Nature Reviews**, v. 2, n. 10, p. 787-795, 2002.

LEANDRO, L. M.; VARGAS, F. S.; BARBOSA, P. C. S.; NEVES, J. K. O.; SILVA, J. A. S.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Chemistry and Biological Activities of Terpenoids from Copaiba (*Copaifera* spp.). **Oleoresins Molecules**, v. 17, p. 3866-3889, 2012.

LEES, P. Pharmacology of drugs used to treat osteoarthritis in veterinary practice. **Inflammopharmacology**, v. 11, p. 385-399, 2003.

LEGAULT, J.; CÔTÉ, P. A.; OUELLET, S.; SIMARD, S.; PICHETTE, A. Iso-Caryophyllene Cytotoxicity Induced by Lipid Peroxidation and Membrane Permeabilization in L- 929 Cells. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 8, p. 25-31, 2013.

LIMA, M. C. J. S.; BITENCOURT, M. A. O.; FURTADO, A. A.; OLIVEIRA-ROCHA, H. A.; OLIVEIRA, R. M.; SILVA-JÚNIOR, A. A.; TABOSA, E. E. S.; TAMBOURGI, D. V.; ZUCOLOTTI, S. M.; FERNANDES-PEDROSA, M. F. *Ipomoea asarifolia* neutralizes inflammation induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom. **Journal of Ethnopharmacol**, v. 153, p. 890-895, 2014.

LIMA-ACCIOLY, P. M.; LAVOR-PORTO, P. R.; CAVALCANTE, F. S.; MAGALHÃES, P. J. C.; LAHLOU, S.; MORAIS, S. M.; LEAL-CARDOSO, J. H. Essential Oil Of *Croton Nepetaefolius* And Its Main Constituent, 1,8-Cineole, Block Excitability Of Rat Sciatic Nerve *In Vitro*. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 33, p. 1158–1163, 2006.

LIN, E.; CALVANO, S. E.; LOWRY, S. F. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. **Surgery**, v. 127, n. 2, p. 117-126, 2000.

LINNAEUS, C. V. **Species Plantarum**. Stockholm: Facsimile, London, Adland & Son, v. 1, p. 1007, 1753.

LOISA, P.; RINNE, T.; LAINE, S.; HURME, M.; KAUKINEN, S. Anti-inflammatory cytokine response and the development of multiple organ failure in severe sepsis. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v. 47, n. 3, p. 319-325, 2003.

LOIZZO, M. R.; TUNDIS, R.; MENICHINI, F.; SAAB, A. M.; STATTI, G. A.; MENICHINI, F. Antiproliferative effects of essential oils and their major constituents in human renal adenocarcinoma and amelanotic melanoma cells. **Cell Proliferation**, v. 41, p. 1002-1012, 2008.

LYMAN, M.; LLOYD, D. G.; JI, X.; VIZCAYCHIPI, M. P.; MA, D. Neuroinflammation: the role and consequences. **Neuroscience Research**, v. 79, p. 1-12, 2014.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, J. V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.

MARNETT, L. J. The COXIB experience: A look in the rear-view mirror. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 49, p. 265-290, 2009.

MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; ALMEIDA, T. S.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Atividade antibacteriana *In vitro* de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 3, p. 294-298, 2010b.

MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Screening for *in vitro* phototoxic activity of methanol extracts of *Croton campestris* A., *Ocimum gravissimum* L. & *Cordia verbenaceae* DC. **Indian Journal of Medical Research**, v. 132, n. 5, p. 520-552, 2010a.

MATIAS, E. F.; SANTOS, K. K.; ALMEIDA, T. S.; COSTA, J. G.; COUTINHO, H. D. Phytochemical prospection and modulation of aminoglycoside antibiotic activity by *Croton campestris* A. **Chemotherapy**, v. 57, n. 4, p. 305-309, 2011.

MATTILA, J.; THOMAS, A. C. Nitric oxide synthase: non-canonical expression patterns. **Frontiers in Immunology**, v. 5, p. 478, 2014.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 428-435, 2008.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771-776, 2010.

MESQUITA-JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S.; SILVA, N. P.; ANDRADE, L. E. C.; CRUVIEL, W. M. Aspectos celulares e moleculares da inflamação. **Sinopse de Reumatologia**, p. 66-81, 2008.

MEVES, H. Arachidonic acid and ion channels: an update. **British Journal of Pharmacology**, v. 155, n. 1, p. 4-16, 2008.

MITCHELL, S.; THOMAS, G.; HARVEY, K.; COTTELL, D.; REVILLE, K.; BERLASCONI, G.; PETASIS, N. A.; ERWIG, L.; REES, A. J.; SAVILL, J.; BRADY, H. R.; GODSON, C. Lipoxins, aspirin-triggered epi-lipoxins, lipoxin stable analogues, and the resolution of inflammation: stimulation of macrophage phagocytosis of apoptotic neutrophils *in vivo*. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 13, n. 10, p. 2497-2507, 2002.

MOCELLIN, S.; WANG, E.; MARINCOLA, F. M. Cytokines and immune response in the tumor microenvironment. **Journal of Immunotherapy**, v. 24, n. 5, p. 392-407, 2001.

MONTENEGRO, M. R.; FRANCO, M. **Patologia: processos gerais**. 4ª ed. São Paulo: Ateneu, 2008.

MORAES, M. S.; COSTA, P. E.; BATISTA, W. L.; PASCHOALIN, T.; CURCIO, M. F.; BORGES, R. E.; TAHA, M. O.; FONSECA, F. V.; STERN, A.; MONTEIRO, H. P. Endothelium-derived nitric oxide (NO) activates the NO-epidermal growth factor receptor-mediated signaling pathway in bradykinin-stimulated angiogenesis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 558, p. 14-27, 2014.

NAGARAJA, T. N.; KEENAN, K. A.; FENSTERMACHER, J. D.; KNIGHT, R. A. Acute Leakage Patterns of Fluorescent Plasma Flow Markers after Transient Focal Cerebral Ischemia Suggest Large Openings in Blood-Brain Barrier. **Microcirculation**, v. 15, n. 1, p. 1-14, 2008.

NARDI, G. M.; FELIPPI, R.; DALBÓ, S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J. M.; ARRUDA, D. C.; MONACHE, F. D.; TIMBOLA, A. K.; PIZZOLATTI, M. G.; CKLESS, K.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M. Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Croton celtidifolius* bark. **Phytomedicine**, v. 10, n. 2-3, p. 176-184, 2003.

NETEA, M. G.; VAN DER MEER, J. W.; VAN DEUREN, M.; KULLBERG, B. J. Proinflammatory cytokines and sepsis syndrome: not enough, or too much of a good thing? **Trends in Immunology**, v. 24, n. 5, p. 254-258, 2003.

NORLING, L. V.; SERHAN, C. N. Profiling in resolving inflammatory exudates identifies novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators and signals for termination. **Journal of Internal Medicine**, v. 268, n. 1, p. 15-24, 2010.

OBERHOLZER, A.; OBERHOLZER, C.; MOLDAWER, L. L. Interleukin-10: a complex role in the pathogenesis of sepsis syndromes and its potential as an anti-inflammatory drug. **Critical Care Medicine**, v. 30, n. 1, p. 58-63, 2002.

OLIVEIRA, A. C.; LEAL-CARDOSO, J. H.; SANTOS, C. F.; MORAIS, S. M.; COELHO-DE-SOUZA, A. N. Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton zehntneri* in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n. 11, p. 1471-1474, 2001.

OLIVEIRA, C. M. B.; SAKATA, R. K.; ISSY, A. M.; GEROLA, L. R.; SALOMÃO, R. Citocinas e dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 61, n. 2, p. 255-265, 2011.

OLIVEIRA, I. G.; CARTAXO, S. L.; SILVA, M. A. P. Plantas Medicinais Utilizadas na Farmacopéia Popular em Crato, Juazeiro e Barbalha (Ceará, Brasil). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 1, p. 189-191, 2007.

OLIVEIRA-JÚNIOR, S. R.; CONCEIÇÃO, G. M. Espécies Vegetais Nativas Do Cerrado Utilizadas Como Medicinais Pela Comunidade Brejinho, Caxias, Maranhão, Brasil. **Cadernos de Geociências**, v. 7, n. 2, 2010.

ORAV, A.; STULOVA, I.; KAILAS, T.; MÜÜRSEPP, M. Effect of storage on the essential oil composition of *Piper nigrum* L. fruits of different ripening states. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, p. 2582-2586, 2004.

PARKIN, J.; COHEN, B. An overview of immune system. **Lancet**, v. 357, p. 1777-1789, 2001.

PASSOS, G. F.; FERNANDES, E. S.; CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; PIANOWSKI, L. F.; CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J. B. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenácea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 323–333, 2007.

PAVCNIK-ARNOL, M.; HOJKER, S.; DERGAN, M. Lipoprotein-binding protein in critically ill neonates and children with suspected infection: comparison with Procalcitonin, interleukin 6 and C-reactive protein. **Intensive Care Medicine**, v. 30, p. 1454-1460, 2004.

PERAZZO, F. F.; CARVALHO, J. C. T.; RODRIGUES, M.; MORAIS, E. K. L.; MACIEL, M. A. M. Comparative anti-inflammatory and antinociceptive effects of terpenoids and an aqueous extract obtained from *Croton cajucara* Benth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 521-528, 2007.

PERKINS, J. A. Acute and chronic inflammation. In: PERKINS J. A. **Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease**. Elsevier Saunders: Philadelphia, p. 43–77, 2010.

PIINGSUSAEN, P.; KUNANUSORN, P.; KHONSUNG, P.; CHIRANTHANUT, N.; PANTHONG, A.; RUJJANAWATE, C. Investigation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of *Stahlianthus involucratus* rhizome ethanol extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 162, p. 199–206, 2015.

PINHEIRO, M. M.; FERNANDES, S. B.; FINGOLO, C. E.; BOYLAN, F.; FERNANDES, P. D. Anti-inflammatory activity of ethanol extract and fractions from *Couroupita guianensis* Aublet leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, n. 1, p. 324-330, 2013.

RABEHAJA, D. J.; IHANDRIHARISON, H.; RAMANOELINA, P. A.; BENJA, R.; RATSIMAMANGA-URVERG, S.; BIGHELLI, A.; CASANOVA, J.; TOMI, F. Chemical composition of the essential oil from *Croton kimosorum*, an endemic species to Madagascar. **Natural product communications**, v. 9, n. 1, p. 129-32, 2014.

- RADU, M.; CHERNOFF, J. An *in vivo* assay to test blood vessel permeability. **Journal of Visualized Experiments**, v. 73, p. 1-4, 2013.
- RAMOS, A.; BERTON, O.; PIERRE, M.; CHAULOFF, F. A multiple-test study of anxiety-related behaviors in six inbred rat strains. **Behavioral Brain Research**, v. 85, p. 57-69, 1997.
- RAMOS, J. M. O.; SANTOS, C. A.; SANTANA, D. G.; SANTOS, D. A.; ALVES, P. B.; THOMAZZI, S. M. Chemical constituents and potential anti-inflammatory activity of the essential oil from the leaves of *Croton argyrophyllus*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 4, p. 644-650, 2013.
- RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Rang e Dale - Farmacologia**. 7^a ed. Elsevier: Rio de Janeiro, p. 768, 2012.
- RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603-613, 2001.
- REMICK, D. G. Cytokines and cytokine receptors: principles of action. In: KRONFOL, Z. editor. **Cytokines and mental health**. Kluwer Academic: Boston, 2003.
- RIBEIRO, D.; FREITAS, M.; LIMA, J. L. F. C.; FERNANDES, E. Proinflammatory Pathways: The Modulation by Flavonoids. **Medicinal Research Reviews**, v. 35, p. 877-936, 2015.
- RICCIOTTI, E.; FITZGERALD, G. A. Prostaglandins and inflammation. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 31, n. 5, p. 986-1000, 2011.
- RIINA, R.; BERRY, P. E.; VAN EE, B. W. Molecular Phylogenetics of the Dragon's Blood *Croton* Section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae): A Polyphyletic Assemblage Unraveled. **Systematic Botany**, v. 34, n. 2, p. 360-374, 2009.
- ROBLES, M.; AREGULLIN, M.; WEST, J.; RODRIGUEZ, E. Recent studies on the zoopharmacognosy, pharmacology and neurotoxicology of sesquiterpene lactones. **Planta Medica**, v. 61, p. 199-203, 1995.
- ROCHA, F. F.; NEVES, E. M. N.; COSTA, E. A.; MATOS, L. G.; MÜLLER, A. H.; GUILHON, G. M. S. P.; CORTES, W. S.; VANDERLINDE, F. A. Evaluation of antinociceptive and antiinflammatory effects of *Croton pullei* var. *glabrior* Lanj. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, 2008.
- ROGERIO, A. P.; SORGI, C. A.; SADIKOT, R.; CARLO, T. The role of lipids mediators in inflammation and resolution. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 2-4, 2015.

ROLLINS, B. J. Inflammatory chemokines in cancer growth and progression. **European Journal of Cancer**, v. 42, n. 6, p. 760-767, 2006.

RUSSO, R. C.; GARCIA, C. C.; BARCELOS, L. S.; RACHID, M. A.; GUABIRABA, R.; ROFFE, E.; SOUZA, A. L.; SOUSA, L. P.; MIROLO, M.; DONI, A.; CASSALI, G. D.; PINHO, V.; LOCATI, M.; TEIXEIRA, M. M. Phosphoinositide 3-kinase gamma plays a critical role in bleomycin-induced pulmonary inflammation and fibrosis in mice. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 89, n. 2, p. 269-282, 2011.

RYAN, A.; GODSON, C. Lipoxins: regulators of resolution. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 10, n. 2, p. 166-172, 2010.

RZODKIEWICZ, P.; GASINSKA, E.; MASLINSKI, S.; BUJALSKA-ZADROZNY, M. Antinociceptive properties of esculetin in non-inflammatory and inflammatory models of pain in rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 42, n. 2, p. 213–219, 2014.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 11-33, 2007.

SANTOS, F. A.; JEFERSON, F. A.; SANTOS, C. C.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S. N. Antinociceptive effect of leaf essential oil from *Croton sonderianus* in mice. **Life Sciences**, v. 77, n. 23, p. 2953–2963, 2005.

SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 240–244, 2000.

SARTORI, L. R.; FERREIRA, M. S.; PERAZZO, F. F.; MANDALHO LIMA, L.; CARVALHO, J. C. T. Atividade anti-inflamatória do granulado de *Calendula officinalis* L. e *Matricaria recutita* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 17-19, 2003.

SERHAN, C. N.; BRAIN, S. D.; BUCKLEY, C. D.; GILROY, D. W.; HASLETT, C.; O'NEILL, L. A.; PERRETTI, M.; ROSSI, A. G.; WALLACE, J. L. Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. **FASEB Journal**, v. 21, n. 2, p. 325-332, 2007.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 18, n. 3, p. 385–405, 2004.

SHUREIQI, I.; LIPPMAN, S. M. Lipoxygenase modulation to reverse carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 61, n. 17, p. 6307-6312, 2001.

SILVA, S. L.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Chemotherapeutic potential of the volatile oils from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam leaves. **European Journal of Pharmacology**, v. 576, p. 180–188, 2007.

SILVA, A. C.; ALVES, R. C.; PINHEIRO, L. S. As implicações da caquexia no câncer. **e-Scientia**, v. 5, n. 2, p. 49-56, 2012a.

SILVA, F. R.; WISNIEWSKI-JUNIOR, A.; CECHINEL-FILHO, V.; NUNES, D. S. Chemical composition of essential oil from the bark of *Croton cajucara* Benth. **Acta Scientiarum**, v. 34, n. 3, p. 325-329, 2012c.

SILVA, F. V.; OLIVEIRA, I. S.; FIGUEIREDO, K. A.; JÚNIOR, F. B. M.; COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; AMARAL, M. P. M.; ALMEIDA, F. R. C.; OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA, R. C. M. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Sterculia striata* A. St.-Hil. & Naudin (Malvaceae) in rodents. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, p. 694–700, 2014.

SILVA, J. S.; SALES, M. F.; CARNEIRO-TORRES, D. S. O gênero *Croton* (Euphorbiaceae) na microrregião do Vale do Ipanema, Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v. 60, n. 4, p. 879-901, 2009.

SILVA, M. D.; GUGINSKI, G.; WERNER, M. F.; BAGGIO, C. H.; MARCON, R.; SANTOS, A. R. S. Involvement of Interleukin-10 in the anti-inflammatory effect of Sanyinjiao (SP6) acupuncture in a mouse modelo of peritonitis. **Evid Based Complement Alternat Med.**, v. 2011, p. 1-9, 2011.

SILVA, N. C. B.; REGIS, A. C. D.; ESQUIBEL, M. A.; SANTOS, J. E. S.; ALMEIDA, M. Z. Uso de plantas medicinais na comunidade quilombola da Barra II – Bahia, Brasil. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 11, n. 5, p. 435-453, 2012b.

SILVA, S. L. C.; CARVALHO, M. G.; GUALBERTO, S. A.; CARNEIRO-TORRES, D. S.; VASCONCELOS, K. C. F.; OLIVEIRA, N. F. Bioatividade do extrato etanólico do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre *Crochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 4, p. 252-258, 2010.

STEAGALL, P. V. M.; MOUTINHO, F. Q.; MATOVANI, F. B.; PASSARELLI, D.; THOMASSIAN, A. Evaluation of the adverse effects of subcutaneous carprofen over six days in healthy cats. **Research in Veterinary Science**, v. 86, p. 115-120, 2009.

SUÁREZ, A. I.; BLANCO, Z.; COMPAGNONE, R. S.; SALAZAR-BOOKAMAN, M. M.; ZAPATA, V.; ALVARADO, C. Anti-inflammatory activity of *Croton cuneatus* aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, n. 1-2, p. 99-101, 2006.

SUÁREZ, A. I.; COMPAGNONE, R. S.; SALAZAR-BOOKAMAN, M. M.; TILLET, S.; MONACHE, F. D.; GIULIO, C. D.; BRUGES, G. B. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton malambo* bark aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, n. 1, p. 11-14, 2003.

SYAM, S.; BUSTAMAM, A.; ABDULLAH, R.; SUKARI, M. A.; HASHIM, N. M.; MOHAN, S.; LOOI, C. Y.; WONG, W. F.; YAHAYU, M. A.; ABDELWAHAB, S. I. β Mangostin suppress LPS-induced inflammatory response in RAW 264.7 macrophages *in vitro* and carrageenan-induced peritonitis *in vivo*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 153, n. 2, p. 435-445, 2014.

TAK, P. P.; FIRESTEIN, G. S. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases. **Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 1, p. 7-11, 2001.

TAKEDA, H.; TSUJI, M.; MATSUMIYA, T. Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 350, p. 21-29, 1998.

TAKESHITA, K.; BACON, K. B.; GANTNER, F. Critical role of L-selectin and histamine H4 receptor in zymosan-induced neutrophil recruitment from the bone marrow: comparison with carrageenan. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 310, n. 1, p. 272-280, 2004.

THOMPSON-SNIPES, L.; DHAR, V.; BOND, M. W.; MOS-MANN, T. R.; MOORE, K. W.; RENNICK, D. M. Interleukin 10: a novel stimulatory factor mast cells and their progenitors. **Journal of Experimental Medicine**, v. 173, p. 507-510, 1991.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária uma introdução**. 8^a ed. Elsevier: Rio de Janeiro, p. 587, 2009.

TONET, A. C.; NÓBREGA, O. T. Imunossenescência: a relação entre leucócitos, citocinas e doenças crônicas. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 11, p. 259-273, 2008.

- TRACEY, K. J. The inflammatory reflex. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 853-859, 2002.
- TUNG, Y. T.; CHUA, M. T.; WANG, S. Y.; CHANG, S. T. Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous Cinnamon (*Cinnamomun osmophloeum*) twigs. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3908–3913, 2008.
- UDOBANG, J. A.; NWAFOR, P. A.; OKOKON, J. E. Analgesic and antimalarial activities of crude leaf extract and fractions of *Acalypha wilkensiiana*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 373-338, 2010.
- ULLOA, L.; TRACEY, K. J. The "cytokine profile": a code for sepsis. **Trends in Molecular Medicine**, v. 11, n. 2, p. 56-63, 2005.
- VALER, C. M.; WIIRZLER, L. A. M.; SILVA-FILHO, S. E.; CAVALCANTE, H. A. O.; SILVA-COMAR, F. M. S.; CUMAN, R. K. N. Anti-inflammatory Activity of the Essential Oil of *Croton zehntneri* and Its Main Constituent Estragole. **International Journal of Pharma And Chemical Research**, v. 2, n. 3, 2016.
- VASUDEVAN, M.; GUNNAM, K. K.; PARLE, M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Thespesia populnea* bark extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 264–270, 2007.
- VEIGA-JUNIOR, V. F.; MELLO, J. C. P. As monografias sobre plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 464-471, 2008.
- VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.
- VERMA, S.; OJHA, S.; RAISH, M. Anti-inflammatory activity of *Aconitum heterophyllum* on cotton pellet-induced granuloma in rats. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, p. 1566-1569, 2010.
- VERRI-JÚNIOR, W. A.; CUNHA, T. M.; PARADA, C. A.; POOLE, S.; CUNHA, F. Q.; FERREIRA, S. H. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 112, n. 1, p. 116-138, 2006.
- VERRI-JÚNIOR, W. A.; CUNHA, T. M.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. Cytokine inhibitors and pain control. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 47, n. 5, p. 341-353, 2007.

VIANNA, H. R.; SOARES, C. M. B. M.; TAVARES, M. S.; TEIXEIRA, M. M.; SILVA, A. C. Inflammation in chronic kidney disease: the role of cytokines. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 33, n. 3, p. 351-364, 2011.

VIJAYALAXMI, A.; VASUDHA, B.; NAZIA, B.; KOWMUDI, V.; NAVEEN, K. Y.; YOGESH, R. Anti-arthritic and anti inflammatory activity of beta caryophyllene against Freund's complete adjuvant induced arthritis in wistar rats. **Journal of Bone Reports & Recommendations**, v. 1, n. 2-9, p. 1-9, 2015.

VILČEK, J.; FELDMANN, M. Historical review: Cytokines as therapeutics and targets of therapeutics. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 25, n. 4, p. 201-209, 2004.

VUNDA, S. L.; SAUTER, I. P.; CIBULSKI, S. P.; ROEHE, P. M.; BORDIGNON, S. A.; ROTT, M. B.; APEL, M. A.; VON POSER, G. L. Chemical composition and amoebicidal activity of *Croton pallidulus*, *Croton ericoides*, and *Croton isabelli* (Euphorbiaceae) essential oils. **Parasitology Research**, v. 111, n. 3, p. 961-966, 2012.

WERMUTH, C. G. Strategies in the search for new leads compounds or original working hypothesis. In: WERMUTH, C. G. **The Practice of Medicinal Chemistry**. 2ed. San Diego: Academic Press, 2003, p. 69-89.

WISE, L. E.; CANNAVACIULO, R.; CRAVATT, B. F.; MARTIN, B. F.; LITCHMAN, A. H. Evaluation of fatty amides in the carrageenan-induced paw edema model. **Neuropharmacology**, v. 54, p. 181, 2008.

XIMENES, R. M.; NOGUEIRA, L. M.; CASSUNDÉ, N. M.; JORGE, R. J.; SANTOS, S. M.; MAGALHÃES, L. P.; SILVA, M. R.; BARROS-VIANA, G. S.; ARAÚJO, R. M.; SENA, K. X.; ALBUQUERQUE, J. F.; MARTINS, R. D. Antinociceptive and wound healing activities of *Croton adamantinus* Müll. Arg. essential oil. **Journal of Natural Medicines**, v. 67, n. 4, p. 758-764, 2013.

YEDGAR, S.; KRIMSKY, M.; COHEN, Y.; FLOWER, R. Treatment of inflammatory diseases by aselective eicosanoid inhibitor: a double-edged sword? **Pharmacological Sciences**, v. 28, n. 9, p. 459-464, 2007.

ZHAO, J.; FANG, F.; YU, L.; WANG, G.; YANG, L. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton crassifolius* ethanol extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, n. 2, p. 367-373, 2012.

ANEXOS



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE EXPERIMENTAÇÃO E USO DE ANIMAIS

Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta
Fones: (088) 3102.1291 / Fax: (088) 3102.1291
CEP 63105-000 – Crato - CE - Brasil
propg@urca.br - www.urca.br/ceua



DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o projeto intitulado "AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton campestris* A. ST.-HIL. (EUPHOBIAACEAE) E DO CONSTITUINTE β -CARIOFILENO EM MODELOS *IN VIVO*". Processo N° 232/2016.1 foi **APROVADO** pela Comissão de experimentação e Uso de Animais – CEUA/URCA.

Dr^a Marta Regina Kerntopf

Presidente em exercício do CEUA/URCA

CRATO-CE

2016



Herbário Caririense Dárdano de Andrade – Lima
Universidade Regional do Cariri - URCA

NÚMERO DE HERBÁRIO

Remetente: Nº 25.2015

HERBÁRIO CARIRIENSE DÁRDANO DE ANDRADE-LIMA (HCDAL/URCA)

Contato: Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva (herbario@urca.br)

Universidade Regional do Cariri - URCA

Departamento de Ciências Biológicas

Rua: Cel. Antônio Luiz, 1161

Campus do Pimenta - Crato - CE

CEP: 63.105-100

Destinatário: Data: 19.08.2015

Laboratório de Farmacologia e Química Molecular - LFQM


Contato: Cícera Dafiane de Moraes Oliveira

Universidade Regional do Cariri

Nº Amostras: 1

Tipo de Operação: Número de Herbário

	Nº HCDAL	NOME POPULAR	FAMÍLIA	NOME CIENTÍFICO	RESPONSÁVEL
01	12.065	Velame-do-campo	Euphorbiaceae	<i>Croton campestris</i> A. St.-Hil.	Tiago Rodrigues Leite


 Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
 Curadora do HCDAL