



*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Universidade Federal de Goiás  
Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas

**ROBERTA CAMPOS LINO**

# **Estudos dos mecanismos envolvidos nos efeitos analgésico e anti- inflamatório de dois candidatos a protótipos de fármacos - LQFM 002 e 015**

**Goiânia  
2011**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)  
GPT/BC/UFG**

L758e Lino, Roberta Campos .  
Estudo dos mecanismos envolvidos nos efeitos  
analgésico e anti-inflamatório de dois candidatos a protótipos  
de fármacos - LQFM 002 e 015 [manuscrito] / Roberta  
Campos Lino. - 2011.  
85 f. : il., figs, tabs.

Orientador: Prof. Dr. Elson Alves Costa.  
Dissertação (Mestrado) ó Universidade Federal de Goiás,  
Instituto de Ciências Biológicas, 2011.

**Bibliografia.**

Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.  
Anexos.

Analgésicos ó Estudo ó Efeitos. 2. Anti-inflamatórios  
ó Estudo ó Efeitos. I. Título.

CDU: 615.212

# Estudos dos mecanismos envolvidos nos efeitos analgésico e anti-inflamatório de dois candidatos a protótipos de fármacos - LQFM 002 e 015.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Biologia.

**Orientador:** Prof. Dr<sup>o</sup>. Elson Alves Costa

**Goiânia  
2011**

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**1. Identificação do material bibliográfico:**       **Dissertação**       **Tese**

### 2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Roberta Campos Lino		
E-mail:	beta_lino@yahoo.com.br		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Vínculo empregatício do autor			
Agência de fomento:	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior	Sigla:	CAPES
País:	Brasil	UF:	Go    CNPJ:    00889834/0001-08
Título:	Estudos dos mecanismos envolvidos nos efeitos analgésico e anti-inflamatório de dois candidatos a protótipos de fármacos - LQFM 002 e 015.		
Palavras-chave:	Atividade analgésica; atividade anti-inflamatória; núcleo pirazólicos.		
Título em outra língua:			
Palavras-chave em outra língua:			
Área de concentração:	Biologia		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	31/03/2011		
Programa de Pós-Graduação:	Programa de pós-graduação em biologia		
Orientador (a):	Elson Alves Costa		
E-mail:	xico@icb.ufg.br		
Co-orientador (a):*			
E-mail:			

\*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

### 3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?<sup>1</sup>       total       parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

Capítulos. Especifique: Está permitida a disponibilização dos: elementos pré-textuais e introdução.

Outras restrições: Não está permitido a disponibilização dos objetivos e material e métodos, resultados, discussão e conclusão, referências e anexo.

<sup>1</sup> Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.



*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

bilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio  
F ou DOC da tese ou dissertação.

s e Dissertações garante aos autores, que os arquivos  
e ou dissertações, antes de sua disponibilização,  
receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de  
conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

*Roberto Lampa Lima*

Data: 25 /06 / 2012

Assinatura do (a) autor (a)



**PDF**  
Complete

*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

“A persistência é o caminho do êxito”  
Charles Chaplin



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

## DICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha amada mãe (Maria Campos Lino), que em todos os momentos de minha vida me apoiou e que nunca deixou de fazer esforços em me ajudar para que os meus sonhos se realizassem.

Ao meu pai José Roberto Lino e ao meu irmão Ricardo Campos Lino que cada um a sua maneira, sempre estiveram ao meu lado.



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

## ADECIMENTOS

À Deus, por iluminar todos os meus caminhos me permitindo mais esta conquista.

Ao meu orientador Prof. Dr. Elson Alves Costa (xico) pelos inúmeros aprendizados sejam eles científicos ou pessoais, pelas muitas horas de conversa e pela compreensão.

Aos meus pais José e Maria pelo apoio incondicional e incentivo, por entenderem as minhas horas de ausência, e por nunca dizerem não aos meus sonhos.

Ao meu irmão Ricardo Campos Lino que mesmo estando longe sempre me apoiou.

Ao Gui, por entender as muitas horas de ausência e reclusão e por me apoiar na conclusão desta conquista.

"... cada vez que me tivesse mostrado suficientemente humilde e disposto a permitir que um ser que não era humano me instruisse, este amigo, quer tivesse quatro patas, seis ou nenhuma, compartilhou comigo uma sabedoria que não tem preço. Todos eles me ensinaram que a perfeita compreensão entre o ser humano e outras formas de vida é possível no momento em que o ser humano cumpre realmente o papel que lhe corresponde." Boone, J. **AMIGOS O PARIENTES**. España : Ediciones Luciérnaga, 1991.

Aos camundongos, sujeitos experimentais deste trabalho, cuja contribuição para ciência é sempre inestimável.

À Pablinny Galdino (binny), amiga, companheira de laboratório, que nunca deixou de me dizer palavras sábias nos momentos em que precisei e pela ajuda na realização dos experimentos.



ela muitas horas de ensinamentos e socorro aos

À Iziara Florentino pela amizade e auxílio aos experimentos e por se dispor a sempre buscar novas técnicas para o laboratório.

Aos que fazem ou fizeram parte da equipe do Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais: Fábio, Paulo, Adriane, José Luís, Daniela, Adriano e James.

Ao Prof. Dr. Ricardo Menegatti pelo apoio e pela síntese das substâncias teste deste trabalho, assim como aos seus alunos de mestrado Marcelo Gomes e Fabiula Martins.

À minha priminha Poly, pelo seu carinho, preocupação e torcida pela realização deste sonho.

À minha querida Tia Darci e ao Juliano pelo apoio na realização final deste trabalho.

Às minhas grandes amigas: Amanda Coelho, Barbara Chaar (buxa), Rubia Barasuol e Raquel Goloni que me acompanharam em mais esta jornada, e que de perto ou de longe sempre pararam para me ouvir e me dar forças para persistir.

À Ekaterina A. F. B. Rivera e Jackson Nascimento de Lima pela assistência técnica.

Ao apoio financeiro da Capes, CnPQ e FUNAPE.

E à todos que de forma direta ou indireta foram importantes para a realização deste trabalho.

## Resumo

Os medicamentos anti-inflamatórios disponíveis no mercado, não esteróides e esteróides, apesar de muito utilizados e eficazes ainda estão longe de serem os medicamentos ideais por possuírem vários efeitos adversos (ex. distúrbios gastrointestinais, renais etc.). No presente trabalho duas novas moléculas sintetizadas pelo Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal-UFG, LQFM-002 e LQFM-015, foram avaliadas quanto à suas atividades anti-inflamatória e antinociceptiva. Estudos anteriores mostraram a atividade de LQFM-002 e LQFM-015 na inibição da atividade da enzima PLA<sub>2</sub> *in vitro*. LQFM-015 foi sintetizada a partir do metabólito 4-nerolidilcatecol, que também inibe a enzima fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>). No presente estudo o tratamento com LQFM-015 (100, 200 e 400 µmol/kg, v.o.) reduziu as contorções abdominais, não alterou os parâmetros observados no campo aberto, não demonstrou ação relaxante e/ou perda de coordenação motora no teste de rota rod e não apresentou ação depressora no sistema nervoso central no teste de sono barbitúrico. A ação antinociceptiva foi confirmada na segunda fase (dor inflamatória) do teste de dor induzida pela formalina, visto que, as três doses (100, 200 e 400 µmol/kg, v.o.) utilizadas reduziram o tempo de reatividade a dor. O tratamento com LQFM-015 (100, 200 e 400 µmol/kg, v.o.) também reduziu o edema no modelo de edema de pata em camundongos. Esta ação anti-inflamatória foi confirmada com a redução da migração celular (em 26 %) e da atividade da enzima mieloperoxidase (em 56 %) com LQFM-015 (155 µmol/kg, v.o.) no modelo de pleurisia em camundongos. LQFM-002 é um derivado pirazólico que em estudos anteriores foi capaz de reduzir a atividade da PLA<sub>2</sub> *in vitro*, reduzir a migração celular e a concentração de azul de Evans em exsudato pleural. Neste trabalho avaliou-se a atividade anti-inflamatória e/ou antinociceptiva de LQFM-002 *in vivo*. No modelo de dor induzido por ácido acético, o tratamento com LQFM-002 (200 µmol/kg, v.o.) foi capaz de reduzir o número de contorções abdominais e o tempo de reatividade à dor no teste de dor induzido pela formalina na primeira e na segunda fase. Os tratamentos com LQFM-002 (400 e 800 µmol/kg, v.o.) aumentaram o tempo de latência à dor na placa quente, e mostraram alterações nos parâmetros do campo aberto sugestivo de uma ação ansiolítica. No teste de sono induzido por pentobarbital, o tratamento com LQFM-002 800 µmol/kg, v.o. potencializou o tempo de sono induzido por pentobarbital, aumentou a movimentação do animal no campo aberto e no rota Rota-rod não houve alterações sugestivas de ação relaxante muscular e/ ou perda de coordenação motora. O tratamento com LQFM-002 foi capaz de reduzir a concentração de TNF-α em aproximadamente 25 %, quando comparado ao grupo tratado com veículo. A ação anti-inflamatória desta molécula pode ser devida a redução de TNF-α. Em conclusão, LQFM-015 apresentou uma ação anti-inflamatória que pode estar relacionada com a redução da atividade da mieloperoxidase e LQFM-002 teve uma ação anti-inflamatória possivelmente devido à redução dos níveis de TNF-α e atividade analgésica que envolve mecanismos centrais.

## ABSTRACT

The anti-inflammatory drugs available in the market, anti-inflammatory non steroidal and steroidal, are widely used, are effective but are still far from being ideal drugs because they have several side effects (eg. gastrointestinal, renal, etc.). In this paper, two new molecules synthesized by the Laboratory of Medicinal Chemistry Pharmaceutical-UFG LQFM-015 and LQFM-002, are evaluated for their ability anti-inflammatory and antinociceptive. Previous studies have shown inhibitory activity on phospholipase A<sub>2</sub> of LQFM-015 and LQFM-002. LQFM-015 was synthesized from the metabolite 4-nerolidylcatechol, which also inhibits the enzyme phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>). In this study, treatment with LQFM-015 (100, 200 and 400 µmol/kg, p.o.) reduced the writhings numbers, but without alters the parameters of open field, rota-rod and in the barbituric-induced sleep test. The antinociceptive action was confirmed in the second phase (inflammatory pain) on formalin-induced pain test, whereas the three doses (100, 200 and 400 µmol/kg, p.o.) reduced the time used for reactivity to pain. Treatment with LQFM-015 (100, 200 and 400 µmol/kg, p.o) also reduced edema in rat paw edema model in mice. This anti-inflammatory activity was confirmed by the decreased the cell migration (26%) and the activity of the enzyme myeloperoxidase (56%) with LQFM-015 (155 µmol/kg, p.o.) in the pleurisy model in mice. LQFM-002 is a derivative of pyrazole that in previous studies was capable of reducing PLA<sub>2</sub> activity *in vitro*, reducing cell migration and the concentration of Evans blue in pleural exudate. In this study we evaluated the anti-inflammatory and/or the antinociceptive activity LQFM-002 *in vivo*. In the model of pain induced by acetic acid treatment (LQFM-002 200 µmol/kg, p.o.) reduced the number of writhing and pain reactivity in the test of pain induced by formalin in the first and second phase. Treatments with LQFM-002 (400 and 800 µmol/kg, p.o.) increased the pain latency in hot plate, also showed changes in the parameters of open field suggestive of an anxiolytic action. In the barbituric-induced sleep LQFM-002 800 µmol/kg, p.o., increased the sleep time is in agreement with an anxiolytic action seen in the open field, but without alters the parameters rota-rod test. Treatment with LQFM-002 reduced the concentration of TNF-α by approximately 25% when compared with vehicle group. The anti-inflammatory action of this molecule may be due to reduction of TNF-α. In conclusion LQFM-015 showed anti-inflammatory action that may be related to the reduction of myeloperoxidase activity and LQFM-002 had an anti-inflammatory action possibly due decreased in the levels of TNF-α and analgesic activity involving central mechanisms.

## Introdução

FIGURA 1: MEDIADORES LIPÍDICOS NA INFLAMAÇÃO AGUDA. ....	3
FIGURA 2: A PRODUÇÃO ENDÓGENA DE MEDIADORES LIPÍDICOS .....	6
FIGURA 3: PRODUÇÃO E AÇÃO DE PROSTAGLANDINAS. ....	10
FIGURA 4: NÍVEIS DE MODULAÇÃO DA DOR. ....	15
FIGURA 5: (A) ANEL PIRAZOL; (B) FÓRMULA ESTRUTURAL DA DAPIRONA. ....	18

## Capítulo I

FIGURA 1: EFEITO DE LQFM-015 (100, 200 E 400 $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O NO NÚMERO DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS DE CAMUNDONGOS, INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO (0,6 %, V/V) ACUMULADAS EM 30 MINUTOS. A INDOMETACINA (28 $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.). AS COLUNAS E BARRAS VERTICAIS REPRESENTAM MÉDIA $\pm$ E.P.M. (N = 10) EM VALORES PERCENTUAIS RELATIVO AO GRUPO CONTROLE (VEÍCULO 10 ML/KG, V.O.). *P < 0,05 AND *** P < 0,001 INDICAM O NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DAS DIFERENÇAS QUANDO COMPARADO COM AO GRUPO CONTROLE UTILIZADO. ..	30
FIGURA 2: EFEITO DE LQFM-015 (100, 200 E 400 $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) NO MODELO DE DOR INDUZIDA POR FORMALINA, A) PRIMEIRA FASE (0-5 MIN) E B) SEGUNDA FASE (15-30 MIN). AS COLUNAS E BARRAS VERTICAIS REPRESENTAM AS MÉDIAS $\pm$ ERRO PADRÃO DAS MÉDIAS, DO TEMPO DE REATIVIDADE A DOR DOS ANIMAIS (N=7) EXPRESSO EM SEGUNDOS. INDOMETACINA (28 $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) E MORFINA (35 $\mu\text{MOL/KG}$ , S.C.) FORAM UTILIZADAS COMO CONTROLES POSITIVOS. * = P < 0,05, ** = P < 0,01 E *** = P < 0,001. INDICAM O NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DAS DIFERENÇAS ENTRE OS GRUPOS TRATADOS E O CONTROLE. ....	33
FIGURA 3: EFEITO DE LQFM-015 (100, 200 E 400 $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) E INDOMETACINA (28 $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) NO EDEMA DE PATA EM CAMUNDONGOS INDUZIDO POR CARRAGENINA. CADA BARRA REPRESENTA MÉDIA $\pm$ E.P.M., (N = 9) DAS DIFERENÇAS DE VOLUME ENTRE AS PATAS DE CADA ANIMAL EM VALORES PERCENTUAIS. * P < 0,05, ** P < 0,01 E *** P < 0,001, INDICAM O NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DAS DIFERENÇAS ENTRE OS GRUPOS TRATADOS E O GRUPO CONTROLE.....	34
FIGURA 4: EFEITO DE LQFM-015 (155 $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) E DEXAMETASONA (5,1 $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) NA MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA AVALIADA NO MÉTODO DE PLEURISIA INDUZIDO POR CARRAGENINA EM CAMUNDONGOS. AS COLUNAS E BARRAS REPRESENTAM AS MÉDIAS $\pm$ E.P.M., (N = 8), DO NÚMERO DE LEUCÓCITOS TOTAIS MIGRADOS/ML. * P < 0,05 AND *** P < 0,001 INDICAM O NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DAS DIFERENÇAS ENTRE OS GRUPOS TRATADOS E O GRUPO CONTROLE. ....	35
FIGURA 5: EFEITO DE LQFM-015 (155 $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) E INDOMETACINA (28 $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) NA ATIVIDADE DA ENZIMA MIELOPEROXIDASE (MPO) AVALIADA NO MÉTODO DE PLEURISIA INDUZIDA POR CARRAGENINA EM CAMUNDONGOS. AS COLUNAS E BARRAS REPRESENTAM AS MÉDIAS $\pm$	

## CAPÍTULO II

- FIGURA 1: EFEITO DE LQFM-002 200  $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O NO NÚMERO DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS DE CAMUNDONGOS, INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO (0,6 %, v/v) ACUMULADAS EM 30 MINUTOS. A INDOMETACINA (28  $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.). AS COLUNAS E BARRAS VERTICAIS REPRESENTAM MÉDIA  $\pm$  E.P.M. (N = 9 ) EM VALORES PERCENTUAIS RELATIVO AO GRUPO CONTROLE (VEÍCULO 10 ML/KG, V.O.). \* $P < 0,05$  AND \*\*\*  $P < 0,001$  INDICAM O NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DAS DIFERENÇAS QUANDO COMPARADO COM AO GRUPO CONTROLE UTILIZADO. .... 49
- FIGURA 2: EFEITO DE LQFM-002 (200  $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) NA DOSAGEM DE TNF-A EM EXUDATO PLEURAL DE CAMUNDONGOS COM PLEURISIA INDUZIDA POR CARRAGENINA. CADA BARRA REPRESENTA MÉDIA  $\pm$  E.P.M., N = 8. DIFERENÇAS ESTATÍSTICAS ENTRE O GRUPO TRATADO E O GRUPO CONTROLE (VEÍCULO) FORAM AVALIADAS POR TESTE DE TUKEY. .... 49
- FIGURA 3: EFEITO DE LQFM-002 (200  $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) NO MODELO DE DOR INDUZIDA POR FORMALINA, A) PRIMEIRA FASE (0-5 MIN) E B) SEGUNDA FASE (15-30 MIN). AS COLUNAS E BARRAS VERTICAIS REPRESENTAM AS MÉDIAS  $\pm$  ERRO PADRÃO DAS MÉDIAS, DO TEMPO DE REATIVIDADE A DOR DOS ANIMAIS (N=7) EXPRESSO EM SEGUNDOS. INDOMETACINA (28  $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) E MORFINA (35  $\mu\text{MOL/KG}$ , S.C.) FORAM UTILIZADAS COMO CONTROLES POSITIVOS.  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  E \*\*\*  $P < 0,001$  INDICAM O NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DAS DIFERENÇAS ENTRE OS GRUPOS TRATADOS E O CONTROLE. .... 50
- FIGURA 4: EFEITO DE LQFM-002 (200, 400 E 800  $\mu\text{MOL/KG}$ , V.O.) OU MORFINA (35  $\mu\text{MOL/KG}$ , S.C.) NO MÉTODO DE NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR CALOR (56 ° C). AS COLUNAS E BARRAS VERTICAIS REPRESENTAM AS MÉDIAS  $\pm$  ERRO PADRÃO DAS MÉDIAS, DO TEMPO DE REATIVIDADE A DOR DOS ANIMAIS (N=7) EXPRESSO EM SEGUNDOS. MORFINA (35  $\mu\text{MOL/KG}$ , S.C.) FOI UTILIZADA COMO CONTROLE POSITIVO.  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  E \*\*\*  $P < 0,001$  INDICAM O NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DAS DIFERENÇAS ENTRE OS GRUPOS TRATADOS E O CONTROLE. .... 51

## *Capítulo I*

**TABELA 1: EFEITO DE LQFM-015 NOS TESTES DE CAMPO ABERTO E ROTA-ROD APÓS O TRATAMENTO ORAL ..... 31**

**TABELA 2: EFEITOS DE LQFM-015 NO TEMPO DE SONO EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO TESTE DE SONO INDUZIDO  
POR PENTOBARBITAL ..... 32**

## *Capítulo II*

**TABELA 1: EFEITO DE LQFM-002 NOS TESTES DE CAMPO ABERTO E ROTA-ROD APÓS O TRATAMENTO ORAL ..... 52**

**TABELA 2: EFEITOS DE LQFM-002 NO TEMPO DE SONO EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO TESTE DE SONO INDUZIDO  
POR PENTOBARBITAL ..... 53**

12-LO - Lipoxigenase 12

15-LO - lipoxigenase 15

5-HT – hidroxitriptamina (serotonina)

5-HT<sub>1</sub> - receptor serotoninergico 1

5-HT<sub>1A</sub> - receptor serotoninergico 1A

5-HT<sub>2</sub> - receptor serotoninergico 2

5-HT<sub>2A</sub> - receptor serotoninergico 2A

5-HT<sub>3</sub> - receptor serotoninergico 3

5-HT<sub>4</sub> - receptor serotoninergico 4

5-HT<sub>5</sub> - receptor serotoninergico 5

5-HT<sub>6</sub> - receptor serotoninergico 6

5-LO – lipoxigenase 5

AA – Ácido Araquidônico

Ad PLA<sub>2</sub> – fosfolipase tecido adiposo-específica

AGPI - ácido graxo poliinsaturado

AINEs – Anti-inflamatório não-esteroidais

cPLA<sub>2</sub>Ca<sup>+2</sup> - Fosfolipase citosólica cálcio dependente

cPLA<sub>2</sub> – Fosfolipase A<sub>2</sub> citosólica

DP - receptor de prostaglandina D<sub>2</sub>

EP - receptor de prostaglandina E<sub>2</sub>

PAF - fator de agregação plaquetária

FP- receptor de prostaglandina F<sub>2</sub>

G-CSF - Fator estimulador de colônias granulocitárias

GM-CSF - Fator estimulador de colônias macrocitárias

H<sub>1</sub> - receptor de histamina 1

H<sub>2</sub> - receptor de histamina 2

H<sub>3</sub> - receptor de histamina 3

H<sub>4</sub> - receptor de histamina 4

IL-1  $\beta$  - Interleucina 1 beta

IL-10 - Interleucina-10

IL-11 - Interleucina-11

IL-6 – Interleucina 6

IL-8 – Interleucina 8

IP - receptor de prostaglandina I<sub>2</sub>

iPLA<sub>2</sub> – fosfolipase A<sub>2</sub> independente de cálcio

liso-PAF - lisogliceril-fosforilcolina

LOX – Lipoxigenase

LPLA<sub>2</sub> - fosfolipase A<sub>2</sub> lisossomal

LPS – lipopolisacarídeos

LQFM – Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal

LTB<sub>4</sub> - leucotrieno B<sub>4</sub>

MCP-1 - proteína quimiotática de monócitos 1

MIP-1 $\alpha$  - proteína inflamatória de macrófagos 1 alfa

MPO - mieloperoxidase

mRNA – RNA mensageiro

NK-1R - receptores de membrana neurocinina-1

NO - óxido nítrico

NOS - óxido nítrico sintetase

NRM - o núcleo de Raphe-Magnus

PCR - proteína C reativa

PGD<sub>2</sub>- prostaglandina D<sub>2</sub>

PGE<sub>2</sub> - prostaglandina E<sub>2</sub>

PGF<sub>2</sub> - prostaglandina F<sub>2</sub>

PGG<sub>2</sub> - prostaglandina G<sub>2</sub>

PGH<sub>2</sub> - prostaglandina H<sub>2</sub>

PGI<sub>2</sub> - prostaciclina

PLA<sub>2</sub> – fosfolipase A<sub>2</sub>

gregação plaquetária acetil-hidrolase

SNP - sistema nervoso periférico

SP - substância P

sPLA<sub>2</sub> - fosfolipase A<sub>2</sub> secretada

sPLA<sub>2</sub> – fosfolipase A<sub>2</sub> extracelular dependente de Ca<sup>+2</sup>

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral - alfa

TNF- $\beta$  - Fator de necrose tumoral - beta

TP - receptor de tromboxano A<sub>2</sub>

TX - Tromboxano

TXA<sub>2</sub> - Tromboxano A<sub>2</sub>

## SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

**LISTA DE FIGURAS**

**LISTA DE TABELAS**

**LISTA GRÁFICOS**

**LISTA DE ABREVIATURAS**

1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Inflamação .....	2
2.2 Dor .....	13
3. FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS.....	16
4 OBJETIVOS .....	21
4.1 OBJETIVOS GERAIS .....	21
4.2 Objetivos específicos.....	21

<i>Capítulo I: AVALIAÇÃO IN VIVO DO EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DE UM DERIVADO DA MOLÉCULA DO 4-NEROLIDILCATECOL – LQFM-015. ....</i>	<i>23</i>
--	-----------

1 INTRODUÇÃO .....	23
2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	25
2.1 Drogas e reagentes .....	25
2.2 Animais .....	25
2.3 Teste Farmacológicos.....	25
2.3.1 Teste Geral de atividade.....	25
2.3.2 Contorção abdominal induzida por ácido acético .....	26
2.3.3 Teste do Campo Aberto.....	26
2.3.4 Teste da Barra Giratória .....	26
2.3.5 Sono Induzido por Pentobarbital Sódico.....	27
2.3.6 Dor induzida por formalina.....	27





**PDF**  
Complete

*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

al Sódico.....	48
.....	48
3 RESULTADOS.....	49
3.1 Contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	49
3.2 Quantificação de TNF- $\alpha$ no exsudato pleural de camundongos .....	49
3.3 Dor induzida por formalina.....	50
3.4 Dor induzida por estímulo térmico .....	51
3.5 Teste do Campo Aberto.....	51
3.6 Teste da Barra Giratória .....	52
3.7 Sono Induzido por Pentobarbital Sódico.....	52
4 DISCUSSÃO.....	54
6 CONCLUSÃO.....	59
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
Anexo I: Parecer do comitê de ética .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

# *Introdução*

em mecanismos adaptativos para responder a estímulos agressivos de diferentes origens tais como: físico (queimadura, radiação, trauma), biológico (microorganismo, reações imunológicas) ou químico (substância cáustica), buscando manter o equilíbrio homeostático. Nos vertebrados, esta resposta inclui uma série de alterações bioquímicas, fisiológicas e imunológicas coletivamente denominadas inflamação (Voltarelli, 1994). Este processo envolve uma complexa cascata de eventos bioquímicos e celulares que incluem: extravasamento de fluídos, ativação enzimática, migração celular, liberação de mediadores, sensibilização e ativação de receptores, além de lise e reparo tecidual (Carvalho, 1980). Os mediadores inflamatórios uma vez liberados promovem de forma sinérgica uma alteração no mecanismo de transdução periférica do estímulo nociceptivo, aumentando assim também a sensação dolorosa. A resposta inflamatória ocorre de maneira a avisar ao indivíduo que algo contrário a homeostase do organismo esta ocorrendo, mas se esse processo inflamatório persistir pode ocorrer a perda de função do órgão (Silva e Mota, 2003).

Os anti-inflamatórios não esteróidais (AINEs) estão entre os medicamentos mais utilizados no mundo por possuírem eficácia na redução da dor e inflamação, (Laine, 2001). Um estudo realizado em Pelotas (RS) por Bertoldi, *et al* em 2004, mostrou que o grupo de medicamentos mais utilizado naquela comunidade foi o dos analgésicos e anti-inflamatórios (26,6%).

No entanto apesar da eficácia dos anti-inflamatórios não esteróidais são descritos diversos efeitos colaterais como os problemas gastrointestinais, nefrotoxicidade e agranulocitose fatal (Gambaro e Perazella, 2003; Laine *et al*, 2006; Insel, 1991).

Assim, busca-se cada vez mais medicamentos anti-inflamatórios com menos efeitos colaterais, seja por síntese baseada em moléculas de fármacos já existentes no mercado ou então por moléculas presentes em diferentes fontes naturais tais como plantas.

O presente estudo busca avaliar a ação anti-inflamatória e/ou antinociceptiva de duas moléculas sintetizadas no Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal da

ue em estudos anteriores mostraram seu efeito  
ma fosfolipase A<sub>2</sub> *in vitro* (Martins, 2009; Gomes,  
2009).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Inflamação

A inflamação é conhecida há mais de 2.000 anos sendo descrita por Aulus Cornelius Celsus: “*Notae vero inflammationis sunt quattuor: rubor et tumor cum calore et dolore*” (figura 1). Galeno acrescentou nestes quatro sinais a “*laesa function*”, perda de função (Silva e Mota, 2003).

As inflamações podem ser classificadas temporalmente em agudas (de 1 a 2 semanas) e crônicas (meses ou anos), mas apresentam manifestações comuns no início, ao longo e no final do processo. Durante o processo agudo, assim como no processo crônico da resposta inflamatória, uma variedade de fatores está envolvida no recrutamento de leucócitos, através do aumento da expressão de moléculas de adesão celular e de fatores quimiotáticos. Muitos destes fatores regulam a ativação das células residentes (tais como fibroblastos, células endoteliais, macrófagos teciduais e mastócitos) e também das células inflamatórias recém recrutadas (monócitos, linfócitos, neutrófilos e eosinófilos) importantes para a resposta local, além de alguns destes mediadores induzirem uma resposta sistêmica do processo inflamatório (febre, hipotensão, síntese de proteínas da fase aguda, leucocitose e caquexia) (Feghali e Wright, 1997).

Mediadores inflamatórios responsáveis pelos sinais da inflamação são substâncias biologicamente ativas que em concentrações muito baixas, desencadeiam respostas características em tecidos e órgãos e quanto à natureza química podem ser divididas em: amins , proteínas, lipídeos ou peptídeos (Silva e Mota, 2003).

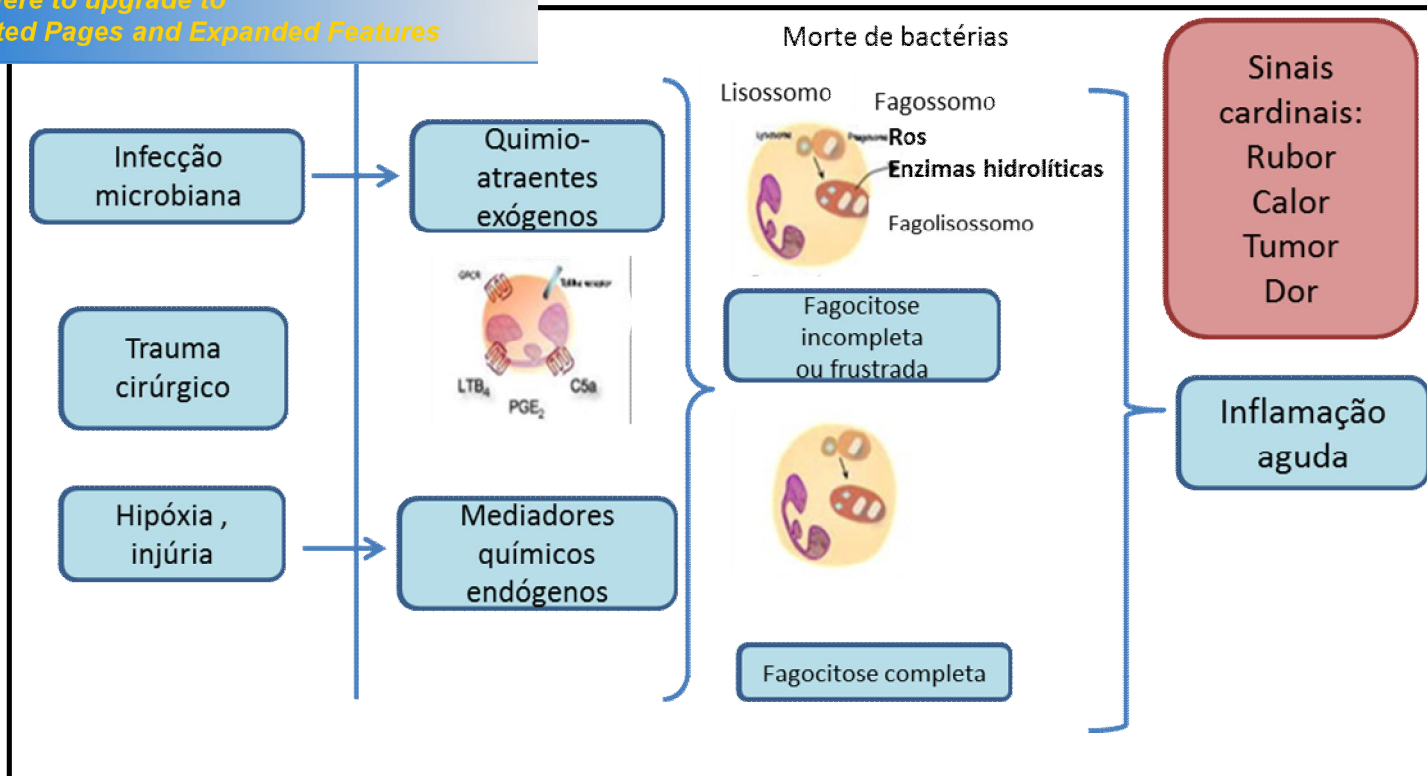


Figura 1: Mediadores lipídicos na inflamação aguda. Em resposta a ferimentos ou infecção, a reação inflamatória aguda iniciado por neutrófilos convocados ao sítio para fagocitar e destruir os micróbios invasores. Neste processo, mediadores pró-inflamatórios derivados de neutrófilos, como leucotrienos e prostaglandinas e a liberação não intencional de enzimas hidrolíticas e reativas de oxigênio e radicais livres podem aumentar este processo e conduzir à inflamação crônica. Modificado de Sehran, 2009.

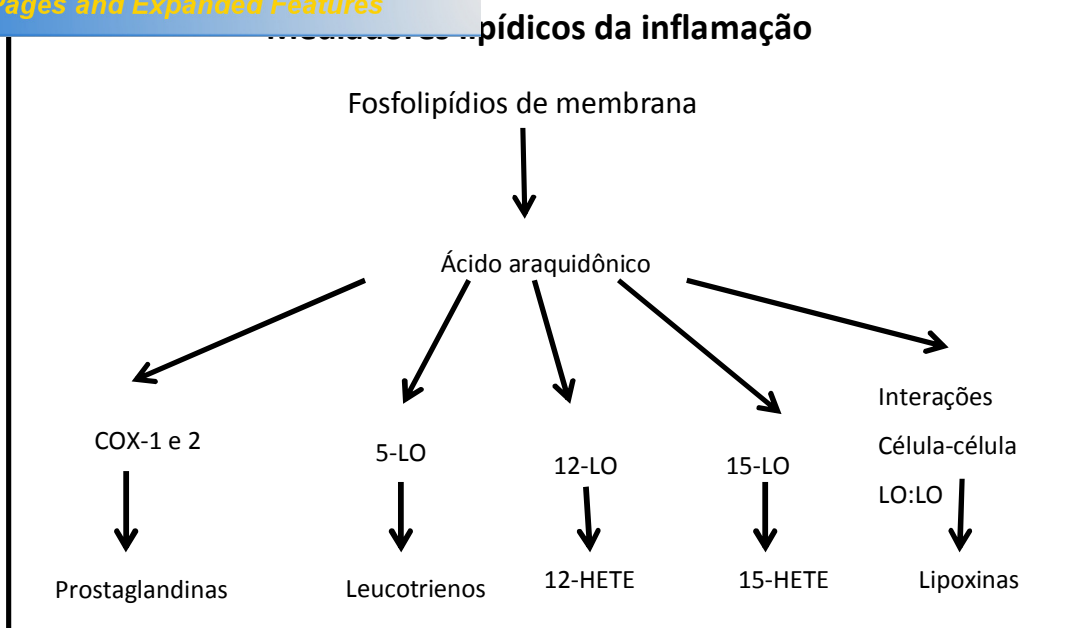
estão entre os primeiros mediadores químicos encontrados nos mastócitos, nos basófilos e nas plaquetas do sangue, (Francischetti, 2010). A histamina é sintetizada por descarboxilação do aminoácido L-histidina pela enzima histidina descarboxilase. É armazenada nas granulações metacromáticas dos mastócitos e dos basófilos e liberada quando essas células são ativadas (Silva e Mota, 2003). Na pele a histamina provoca vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular (eritema e edema) e estimula as terminações nervosas sensoriais (prurido), até o momento quatro subtipos de receptores de histamina têm sido descritas ( $H_1$ ,  $H_2$ ,  $H_3$  e  $H_4$ ) todos eles pertencem à superfamília de receptores acoplados a proteína G (Camelo-nunes, 2006).

A histamina através do receptor  $H_1$  produz muitos sintomas e sinais das doenças alérgicas na pele, no nariz e nas vias aéreas inferiores. Os receptores  $H_2$  podem ser encontrados em células nervosas, células endoteliais, nas vias aéreas inferiores e tem diferentes funções quando ativados como produção de muco, aumento da secreção de ácido gástrico, aumento da permeabilidade vascular e diminuição da quimiotaxia de eosinófilos. Os receptores histamínicos  $H_3$  são encontrados no sistema nervoso central e periférico como receptores pré-sinápticos e controlam a liberação de histamina e outros neurotransmissores. Os basófilos e mastócitos expressam mRNA do receptor de histamina  $H_4$ . Quando os receptores  $H_4$  são ativados, estes promovem o acúmulo de células inflamatórias (particularmente eosinófilos) para sítios da inflamação. Os receptores  $H_3$  e  $H_4$  possuem uma alta homologia tanto que algumas substâncias que se ligam a receptores  $H_3$  podem também se ligar a  $H_4$ . Atualmente o receptor  $H_4$  têm se tornado excelente alvo para novos fármacos (Akdis e Simons, 2006).

A 5-hidroxitriptamina é comumente chamada de serotonina podendo ser produzido no corpo por vários tipos de células, tais como células enterocromafins intestinal, mastócitos e plaquetas ativadas. No sistema imune, a serotonina ativa monócitos humanos e impede a sua apoptose (Soga *et al*, 2007) modula a produção de citocinas e quimiocinas em monócitos (Durk *et al*, 2005). O grande número de receptores serotoninérgicos ( $5-HT_1$ ,  $5-HT_2$ ,  $5-HT_3$ ,  $5-HT_4$ ,  $5-HT_5$ ,  $5-HT_6$  e outros)

amente eficaz, prevê a quase ilimitada capacidade (Cutrer *et al*, 2002). A serotonina esta envolvida com o processo inflamatório e com a dor através da ligação com os seus receptores (5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A</sub>) que além de exercer uma ação direta podem também desencadear a liberação de outros mediadores inflamatórios (Cutrer *et al*, 1999; Bayer *et al*, 2007; Wilcox *et al*, 1991; Abbott *et al*, 1996; Sufka *et al*, 2002). Em 1989, Giordano e Rogers mostraram através do teste de formalina e de um antagonista de 5-HT<sub>3</sub>, o envolvimento dos locais periféricos deste receptor na dor inflamatória, sugerindo a utilidade dos antagonistas seletivos dos receptores 5-HT<sub>3</sub> como analgésicos periféricos. O uso de Anti-inflamatórios não esteroidais é capaz de reduzir a síntese de 5-HT, aumentando as evidências de que o sistema serotoninérgico pode ser modulado ou modular a ação dos AINEs (Miranda *et al*, 2003).

O processo inflamatório é dinâmico e complexo e dele participam inúmeros mediadores inflamatórios, onde alguns são produzidos dentro da chamada cascata do ácido araquidônico (Figura 2). O ácido araquidônico (AA) ou ácido eicosatetraenóico, um ácido graxo essencial insaturado formado com 20 átomos de carbono e quatro duplas ligações, começou a ser estudado em 1930. O AA é considerado fonte de importantes mediadores lipídicos e pode ser liberado por estímulos inespecíficos que ativem as enzimas fosfolipases A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) e C (Silva e Mota, 2003; Hang e Dale, 2004). É dado o nome de eicosanóides aos mediadores inflamatórios derivados do AA e os principais são as prostaglandinas, os tromboxanos e os leucotrienos (Hang e Dale, 2004) que podem ser observados na figura 2.



**Figura 2:** A produção endógena de mediadores lipídicos utilizando ácido graxo ômega-6, ou seja, ácido araquidônico, que é clivada por fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) e torna-se o substrato para ciclooxigenases (COX-1 e -2) e Lipooxygenases (5-LO, 12-LO, e 15-LO) para formar potentes mediadores pró-inflamatórios. Assim, a produção ativa de mediadores lipídios endógenos ajudar na resolução da inflamação. Adaptado de Mittal, 2010.

As enzimas da família das fosfolipases A<sub>2</sub> estão envolvidas em vários processos fisiopatológicos como a inflamação, além disso, na manutenção da função celular normal, pelo fornecimento de ácido araquidônico (AA). PLA<sub>2</sub> através da hidrólise das ligações sn-2 de fosfolípidos liberam o AA e também os lisogliceril-fosforilcolina (liso-PAF) da membrana celular que contém glicero-fosfolípidos (Silva e Mota, 2003; Hang e Dale, 2004). A quebra das ligações sn-2 de fosfolípidos pode ser convertido em uma série de moléculas sinalizadoras, denominados eicosanóides. O liso-PAF um precursor do fator de agregação plaquetária (PAF) é sintetizado pela ação da PLA<sub>2</sub> quando os produtos dos lisofosfolípidos contêm um radical colina e um grupo acil ligado a posição sn-1. Eicosanóides e PAF são mediadores chave na inflamação (Smith *et al.*, 2000). Como prostaglandinas, leucotrienos e PAF podem ser derivados da ação de

ere simultaneamente na sinalização por essas três  
relacionada a diversas respostas celulares, como  
transdução de sinais, mecanismo de defesa, coagulação sanguínea, digestão e  
remodelamento de membrana (Murakami *et al.*, 1998).

Até o momento, 12 grupos de PLA<sub>2</sub>s (grupo I ou GI até grupo XII ou GXII) são conhecidos e classificados principalmente em duas categorias: PLA<sub>2</sub>s intracelulares, e PLA<sub>2</sub> secretadas (sPLA<sub>2</sub>s) (Six e Dennis, 2000; Kudo e Murakami, 2002). Dentre os diferentes tipos de PLA<sub>2</sub> podemos citar: PLA<sub>2</sub> extracelular dependente de Ca<sup>+2</sup> (sPLA<sub>2</sub>); PLA<sub>2</sub> citosólica dependente de Ca<sup>+2</sup> (cPLA<sub>2</sub>); PLA<sub>2</sub> independente de cálcio (iPLA<sub>2</sub>); PLA<sub>2</sub> PAF-acetil-hidrolase (PLA<sub>2</sub> PAF-AH), PLA<sub>2</sub> lisossomal (LPLA<sub>2</sub>) e PLA<sub>2</sub> tecido adiposo-específica (Ad PLA<sub>2</sub>) (Dennis, 1994; Ackermann *et al.*, 1994; Schaloske e Denis, 2006; Abe e Shayman, 1998; Duncan *et al.*, 2008).

A fosfolipase A<sub>2</sub> secretada pode ser encontrada em veneno de abelhas, de cobras e no suco pancreático de mamíferos (Dennis, 1994). A expressão de alguns subtipos de PLA<sub>2</sub> secretada aumenta em várias doenças inflamatórias sugerindo que esta enzima esteja envolvida nos mecanismos de defesa do hospedeiro (Dennis, 1994). A fosfolipase independente de cálcio do grupo GVIB parece estar envolvida no aumento de AA e formação de eicosanóides (Mancuso *et al.*, 2000; Murakami *et al.*, 2005). As fosfolipases encontradas em mamíferos geralmente não apresentam riscos de toxicidade não estando associadas a efeitos potencialmente tóxicos, já as sPLA<sub>2</sub> de peçonhas de serpentes, além do possível papel na digestão da vítima, exibem grande variedade de efeitos farmacológicos sendo então muito estudadas e até mesmo utilizadas para reproduzir modelos de dor e inflamação em laboratórios (Gutiérrez e Lomonte, 1995; Kini, 2003).

O ácido araquidônico através da atuação da enzima prostaglandina G/H sintase citosólica (ciclooxigenase) dá origem a prostaglandinas intermediárias (PGG<sub>2</sub> e PGH<sub>2</sub>). A enzima prostaglandina G/H sintase, apresenta dois sítios catalíticos: o sítio ciclooxigenase e o sítio peroxidase. O sítio ciclooxigenase converte o AA em PGG<sub>2</sub>, que por sua vez é reduzida ao intermediário instável, PGH<sub>2</sub> pelo sítio peroxidase (Brooks *et al.*, 1999). A PGH<sub>2</sub> é convertida pelas isomerases tissulares específicas em múltiplos prostanóides (Dubois *et al.*, 1998). As PGG e PGH apresentam pouca atividade e

ação de diferentes prostaglandinas e tromboxanos prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) e tromboxanos (TX), (Carvalho *et al.*, 2004). A função das prostaglandinas vai variar conforme o tipo de tecido onde a enzima ciclooxigenase estiver atuando (figura 3).

As ciclooxigenases são enzimas que formam prostaglandinas pela introdução de oxigênio na molécula do ácido araquidônico. Portanto, ciclooxigenases catalisam a conversão do ácido araquidônico em prostaglandina, que é um endoperóxido cíclico (PGG<sub>2</sub>), através de uma série de reações nas quais o O<sub>2</sub> é inserido ao AGPI (ácido graxo polinsaturado), seguindo-se de ativação do ácido graxo via abstração do hidrogênio. As ciclooxigenases, em condições fisiológicas, são as maiores produtoras de peróxidos lipídicos (Hsieh, Kinsella, 1989).

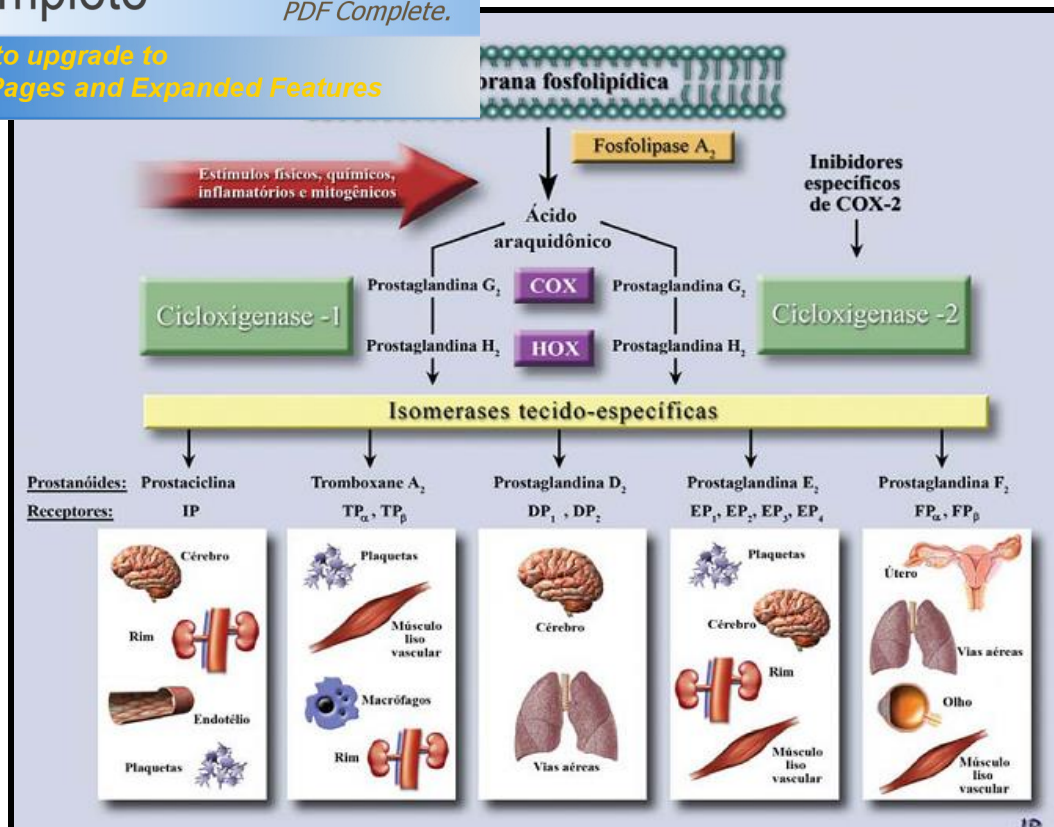
A enzima ciclooxigenase possui três isoformas a COX-1 e a COX-2 e mais recentemente foi descrita a COX-3. A COX-1 é a forma constitutiva predominante da enzima e está expressa em toda parte do organismo, desempenhando determinadas funções homeostáticas, como proteção da mucosa gástrica, influência no fluxo sanguíneo renal e atuação na coagulação sanguínea, controlando a agregação plaquetária. Ao contrário, a COX-2 é a forma induzida da enzima, expressa em resposta ao estímulo inflamatório, estando envolvida na produção das prostaglandinas que são mediadores da dor e suportam o processo inflamatório, (Simon, 1999). As isoformas COX-1 e COX-2 apresentam homologia genética de cerca de 60% em suas regiões codificantes (Carvalho *et al.*, 2004). A terceira isoforma, a COX-3, foi encontrada primeiramente em cães e descrita como uma variante da COX-1 (pois é derivada do mesmo gene dessa isoforma) e encontra-se distribuída principalmente no córtex cerebral, medula espinhal e coração (Chandrasekharan *et al.*, 2002; Carvalho *et al.*, 2004).

Os mediadores inflamatórios como o NO e citocinas derivadas do sistema imunológico (interleucina IL- $\beta$  e fator de necrose tumoral TNF- $\alpha$ ) são indutores potentes da COX-2 nas células envolvidas com a resposta imunológica (Coleman, 2001).

envolvidas em diversos processos fisiológicos e (vasodilatação ou vasoconstricção; contração ou relaxamento da musculatura brônquica ou uterina; hipotensão; ovulação; metabolismo ósseo; aumento do fluxo sanguíneo renal (resultando em diurese, natriurese, caliorese e estimulação da secreção de renina); proteção da mucosa gástrica e regulação do fluxo sanguíneo local; inibição da secreção ácida gástrica; crescimento e desenvolvimento nervoso; resposta imunológica; hiperalgesia; regulação da atividade quimiotáxica celular; resposta endócrina; angiogênese; progressão metastásica, dentre outras (Carvalho *et al.*, 2004). A PGI<sub>2</sub> causa vasodilatação e inibe a agregação plaquetária, enquanto o TXA<sub>2</sub>, sintetizado por plaquetas, causa forte vasoconstricção e induz fortemente à agregação plaquetária. O TXA<sub>2</sub> é um forte quimiotático para os neutrófilos e promove a ativação e a adesão dos mesmos ao endotélio (Francischetti *et al.*, 2010).

As prostaglandinas formadas a partir da ação das ciclooxigenases ligam-se a receptores prostanóides que se encontram localizados na membrana celular, acoplados à proteína G. A ativação da proteína G resulta na estimulação de sistemas efetores responsáveis pela liberação de segundos mensageiros em diversos tecidos. Estes receptores já foram clonados e estão organizados em cinco grupos de acordo com a PG com os quais eles apresentam maior afinidade, designados de DP (PGD<sub>2</sub>), FP (PGF<sub>2</sub>), IP (PGI<sub>2</sub>), TP (PXA<sub>2</sub>) e EP (PGE<sub>2</sub>) (Carvalho *et al.*, 2004).

As lipoxinas são eicosanóides, derivados a partir do ácido araquidônico pela ação enzimática da lipoxigenase, são potentes mediadores anti-inflamatórios que atuam em tecidos humanos e em modelos animais, especificamente lipoxina A<sub>4</sub> (LXA<sub>4</sub>) e B<sub>4</sub> (LXB<sub>4</sub>). Elas têm as ações específicas de limitar o recrutamento de polimorfonucleares (PMN), quimiotaxia e aderência ao local da inflamação. A via 5-lipoxigenase (5-LO), por exemplo, gera leucotrienos que são mediadores pró-inflamatórios, (Serhan, 2008).



**Figura 3:** Produção e ação de prostaglandinas. In: Eventos Cardiovasculares: Um Efeito de Classe dos Inibidores de COX-2. Arquivos Brasileiros de Cardiologia - Volume 85, Nº 3. Araujo *et al*, 2005.

O óxido nítrico (NO) é um mediador inflamatório produzido por diversas células em mamíferos tendo ação relaxante vascular, agente quimiotático, neurotransmissor e inibidor da agregação plaquetária podendo também ser gerado durante as resposta imune e inflamatória (Bhatia *et al.*, 2000; Francischetti *et al*, 2010). O NO é sintetizado pela óxido nítrico sintetase (NOS), ativada pelo aumento do cálcio intracelular, presente em células endoteliais podendo também ser liberado por macrófagos após indução por determinadas citocinas, como interferon- $\gamma$  (Francischetti *et al*, 2010).

Outros mediadores inflamatórios são as citocinas que parecem desempenhar um papel crítico na resposta inflamatória tanto aguda como na crônica. Algumas citocinas promovem claramente a inflamação e são chamadas de pró-inflamatórias enquanto outras suprimem a inflamação sendo chamadas de citocinas anti-inflamatórias. As citocinas envolvidas na resposta aguda são: Interleucina-1 (IL-1),

- $\alpha$ ), Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-11 (IL-11),  
interleucinas, G-CSF e GM-CSF , sendo que, IL-1 ( $\alpha$  e  $\beta$ ) e  
TNF são mediadores inflamatórios extremamente potentes (Feghali e Wright, 1997).  
Sendo as principais citocinas na inflamação aguda o TNF- $\alpha$  e as interleucinas (IL-1, IL-6  
e IL-8), que são importantes mediadores endógenos das moléculas de adesão  
(Francischetti *et al*, 2010).

A IL-1 é secretada por células como fagócitos mononucleares, fibroblastos,  
queratinócitos, e linfócitos T e B (Bhatia *et al.*, 2000). Tanto a IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , podem  
iniciar a febre por aumentar a síntese de PGE<sub>2</sub> pelo endotélio vascular do hipotálamo,  
podem estimular a proliferação de células T, podem também promover a liberação de  
histamina de células mastocitárias no sítio de inflamatório. Todos os efeitos pró-  
inflamatório da IL-1 podem ser antagonizados por IL-1Ra ( que é classificada como  
antagonista de receptor de IL-1) (Feghali e Wright, 1997). Além de ativar linfócitos B e  
T, a interleucina-1 induz alguns parâmetros hematológicos e alterações metabólicas  
típicas da resposta do hospedeiro a infecções e lesões (Okusawa *et al.*, 1988)

TNF- $\alpha$  e TNF- $\beta$  se ligam a receptores em comum possuindo atividades  
biológicas semelhantes. TNF- $\alpha$  é obtido predominantemente a partir de macrófagos  
ativados e age através de receptores celulares ligados à membrana exercendo  
múltiplas atividades biológicas, incluindo estimulação da secreção de proteínas de fase  
aguda e da permeabilidade vascular (Norman *et al.*, 1995; Tracey e Cerami, 1993).  
Pode também induzir febre por duas vias: por aumentar a síntese de PGE<sub>2</sub> pelo  
endotélio vascular do hipotálamo ou por induzir a liberação de IL-1 (Feghali e Wright,  
1997).

Tanto a IL-1 como TNF- $\alpha$  exercem efeitos inflamatórios secundários por  
estimularem a síntese de interleucina-6 (IL-6) em vários tipos celulares (Feghali e  
Wright, 1997; Bhatia *et al.*, 2000).

Interleucina-6 é produzida por uma ampla variedade de células, incluindo  
monócitos/macrófagos, células endoteliais, fibroblastos e células do músculo liso em  
resposta à estimulação por IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e endotoxinas. A importância da IL-6 na  
resposta de fase aguda foi confirmada pela observação de que ela estimula a síntese

uindo a proteína C reativa (PCR), a partir de  
vivo (Feghali e Wright, 1997; Bhatia *et al.*, 2000).

A Interleucina-10 (IL-10) é um citocina anti-inflamatórios pois inibe a liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ ) de monócitos/macrófagos, impedindo dano no tecido (Bhatia *et al.*, 2000; Feghali e Wright, 1997).

As quimiocinas são uma grande família de pequenas proteínas que se distinguem de outras citocinas, sendo os únicos membros da família de citocinas que atuam na superfamília de receptores acoplados a proteína-G. (Bhatia *et al.*, 2000). São consideradas quimiocina: proteína quimiotática de monócitos (MCP)-1 e proteína inflamatória de macrófagos (MIP)-1 $\alpha$ , além de outras. Quimiocinas pode ser classificada como constitutiva ou induzida. As quimiocinas têm efeitos quimiotáticos que ativam os neutrófilos e outros tipos celulares (monócitos, linfócitos, basófilos e eosinófilos) fornecendo um estímulo fundamental para direcionar os leucócitos para as áreas de lesão (Feghali e Wright, 1997). A IL-8 é uma potente quimiocina com propriedades quimioatraentes para neutrófilos (Baggiolini *et al.*, 1994; Bhatia *et al.*, 2000).

A substância P é um neuropeptídeo de 11 amino-ácido que é liberado das terminações nervosas em muitos tecidos. Este peptídeo atua através de ligação aos receptores de membrana NK-1 (neurocinina-1). Além de ser mediador da dor a substância P têm importante papel nos estados inflamatórios como visto na asma, lesão pulmonar e doença inflamatória intestinal. Tendo importância também na resposta imune mediada por células, bem como na artrite experimental. Este papel pró-inflamatório da substância P ocorre através de receptores NK1, fato que pode ser observado em modelos animais de pancreatite aguda com lesão pulmonar associada, pois camundongos deficientes de receptores NK1 obtiveram proteção contra a pancreatite e contra a lesão pulmonar associada à pancreatite (Bhatia *et al.*, 1998).

Segundo a “IASP” (Associação Internacional para o Estudo da Dor), a dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável, relacionada com lesão tecidual real ou potencial, ou descrita em termos deste tipo de dano. Nocicepção é um termo aplicado aos mecanismos neurológicos que detectam o estímulo lesivo (Ferreira, 2002). A interpretação do estímulo nocivo protege o organismo através desse sinal de alarme denominado dor (Le Bars e Willer, 2004). A sensação dolorosa é necessária para mostrar ao indivíduo que algo em seu organismo esta fora do normal, assim o desconforto da dor fará com que o indivíduo procure métodos para solucioná-la. Estes métodos podem ser tratamentos farmacológicos, massagens, fisioterapias, acunputura dentre outros (Kalauokalani *et al.*, 2001; Vallerand *et al.*, 2003; Weiner *et al.*, 2004).

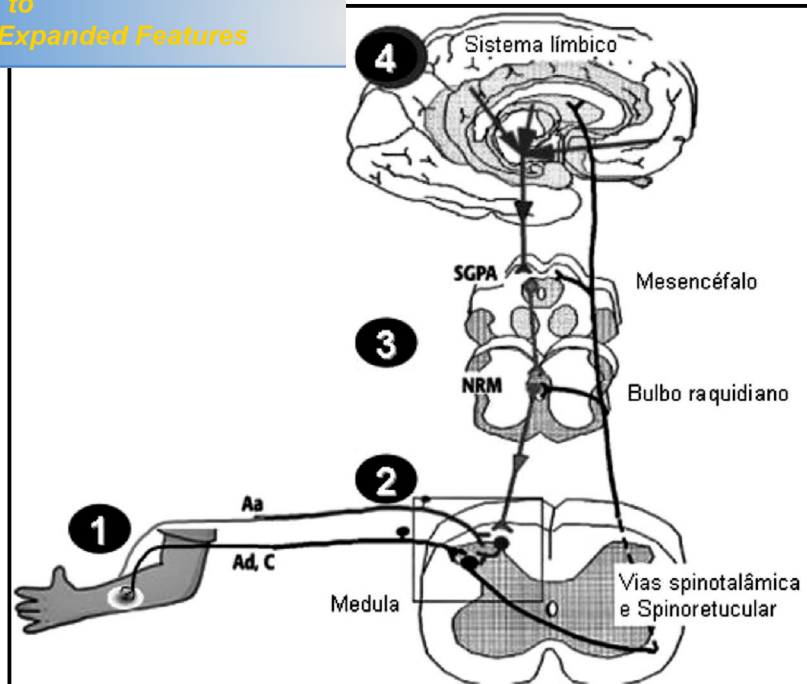
Num contexto temporal, a dor pode ser classificada como aguda ou crônica. A dor aguda esta associada à lesão do organismo, de curta duração e desaparece com a cicatrização dessa lesão ou até mesmo antes (Carr e Goudas, 1999). A dor crônica, por sua vez, é persistente ou recorrente e não esta necessariamente associada a uma lesão no organismo (Loeser e Melzack, 1999).

Quanto a sua origem, existem quatro tipos principais de dor: 1) a dor nociceptiva, que se origina devido à estimulação excessiva dos nociceptores localizados na pele, vísceras ou em outros órgãos; 2) a dor neurogênica, que reflete o dano de tecido neuronal na periferia ou no sistema nervoso central (dor central); 3) a dor neuropática, que acontece devido a uma disfunção ou dano de um nervo ou grupo de nervos e 4) a “dor psicogênica”, que não é oriunda de uma fonte somática identificável e que pode refletir fatores psicológicos (Millan, 1999).

Os nociceptores estão associados as fibras não mielinizadas A $\delta$  e C e seus corpos celulares estão situados em gânglios da raiz dorsal. Os estímulos nócicos se propagam pelas fibras sensoriais aferentes primárias até o corno dorsal da medula espinhal a partir da qual os estímulos são transmitidos ao cérebro (figura 4). As fibras C e A $\delta$  inervam os corpos celulares nas lâminas I e II outras fibras A também inervam a lamina V do corno dorsal (Sarzi-Puttini *et al.*, 2010)

mente relacionada com o processo doloroso, sendo mais da inflamação. Embora os neurônios centrais possam amplificar ou diminuir os sinais “dolorosos”, o neurônio primário nociceptivo tem um papel fundamental na dor inflamatória. Uma vez estimulado, eles geram e conduzem o estímulo para a medula espinhal, passando por vários caminhos até chegar a algumas áreas do córtex cerebral, onde a sensação nociceptiva é detectada e analisada (processo de percepção). O neurônio sensitivo primário faz a sua primeira sinapse em regiões bem definidas (lâminas de Rexel) no corno posterior da medula. A transmissão na sinapse se dá através da liberação, pelo terminal nervoso, de moléculas mediadoras que atuam nos receptores no neurônio subsequente (Ferreira , 2010).

A dor é provocada por mediadores químicos, substâncias produzidas nas lesões inflamatórias que atuam sobre os receptores da dor. Este impulso nociceptivo é modulado pelo sistema nervoso periférico (SNP) pela liberação de neuromediadores (substância P - SP, serotonina, bradicinina, leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), e prostaglandina E<sub>2</sub>) no sistema nervoso central (SNC) pela liberação de neurotransmissores (noradrenalina, serotonina, encefalinas e dopamina) (Souza, 2009).



**Figura 4:** Níveis de modulação da dor. No nível 1 ilustra-se o sistema nervoso periférico, onde há liberação de mediadores químicos que favorecem a estimulação das terminações nervosas. As informações dolorosas são transmitidas ao sistema nervoso central pelas fibras A $\delta$  e C. O nível 2 é o corno posterior da medula espinal. No nível 3, faz-se referência ao tronco cerebral, que inclui a substância cinza periaquedutal (SCP), o núcleo de Raphe-Magnus (NRM) e o *locus coeruleus*. Finalmente, no estágio 4, representamos os centros superiores de controle da dor, sistema límbico e os córtex somatossensoriais primário e secundário. Souza, 2009.

As citocinas desempenham um papel essencial no desenvolvimento da dor inflamatória, bem como outros eventos inflamatórios, como a migração de leucócitos e a estimulação da liberação de outros mediadores inflamatórios envolvidos na dor. A hipernocicepção inflamatória ocorre, pelo menos em parte, como consequência da sensibilização dos nociceptores aferentes primários. Esse fenômeno tem sido atribuída à ação direta de mediadores inflamatórios hipernociceptivos (principalmente PGs e aminas simpáticas) em nociceptores presentes na membrana (Ferreira *et al.*, 1978; Khasar *et al.*, 1999). As principais citocinas descritas como participantes no desenvolvimento da dor inflamatória foram interleucina (IL)-1 $\beta$ , fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$ , IL-6 e IL-8, quimiocina induzida de neutrófilos quimioatraente (CINC)-1, queratinócitos e derivados de quimiocinas (KC), também foi demonstrado que a IL-

epção inflamatória (Verri *et al.*, 2007). Estudos tem  
contra aumentada em fluidos sinoviais diante de  
um processo inflamatório em junções tempero-mandibular e osteoartrites, assim como  
a prostaciclina têm mostrado o seu importante papel como mediador da inflamação e  
dor *in vivo* (Nishimura *et al.*, 2002; Murata *et al.*, 1997). Isto demonstra que o processo  
doloroso está bem próximo do processo inflamatório, podendo ser um dos quadros  
clínicos do processo inflamatório.

O óxido nítrico (NO) também é liberado quando ocorre a passagem do estímulo  
doloroso para o corno dorsal da medula, pois N-metil,D-aspartato (NMDA) induz a  
entrada de íons cálcio nos neurônios ativando assim a óxido nítrico sintase (NOS), o  
que leva a síntese de NO. O NO é capaz de aumentar a liberação de neuropeptídeos  
sensoriais contribuindo também para a hiperalgesia (Sarzi-Puttini *et al.*, 2010)

Entre os agentes que inibem a síntese, liberação, ou efeitos das substâncias  
liberadas no corno dorsal da medula incluem a morfina, bloqueadores de N-metil,D-  
aspartato, ou de receptores de canais de sódio ou cálcio, agonistas- $\alpha_2$ , o ácido  $\alpha$ -  
aminobutírico (GABA) e os antagonistas da substância P (Carr e Goudas, 1999). A  
morfina atua sobre receptores opióides ( $\mu$ , K) localizados no SNC, apesar de também  
exercem sua ação na região periférica.

Os AINES conseguem reduzir a dor inflamatória, sendo que o paracetamol e os  
derivados da dipirona também exercem sua ação no SNC.

### 3. FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS

Dentre os fármacos anti-inflamatórios disponíveis no mercado estão os AINEs e  
os Glicocorticóides.

Os AINEs têm um perfil farmacodinâmico, terapêutico e toxicológico  
semelhantes que pode levar à lesão da mucosa duodenal e sangramento digestivo, à  
lesão renal, leucopenia, confusão mental, insuficiência hepática e prurido (Oliveira,  
2003; Catoggio, 2005). Assim a principal reação adversa que limita o uso dos AINEs  
convencionais é a sua toxicidade gastrointestinal, Laine, 2001.

efeitos antipiréticos e analgésicos, porém as suas propriedades os tornam de grande utilidade no tratamento de distúrbios em que a dor está relacionada à intensidade do processo inflamatório (Katzung, 2003). O modo de ação dos AINES é a inibição da enzima pró-inflamatória cicloxigenase (Cox). Dentre os AINEs existem os que são inibidores não seletivos, ou seja, aqueles que inibem tanto Cox-1 como Cox-2 (AAS, ibuprofeno, meclofenato), os inibidores preferenciais pela Cox-2 (nimesulida, o metabólito ativo da nabumetona e meloxicam) e os inibidores seletivos da Cox-2 (rofecoxibe, celecoxib, etoricoxib, valdecoxib e lumiracoxib) (Meade *et al.*, 1993; Pairet e Engelhardt, 1996; Donnelly e Hawkey, 1997).

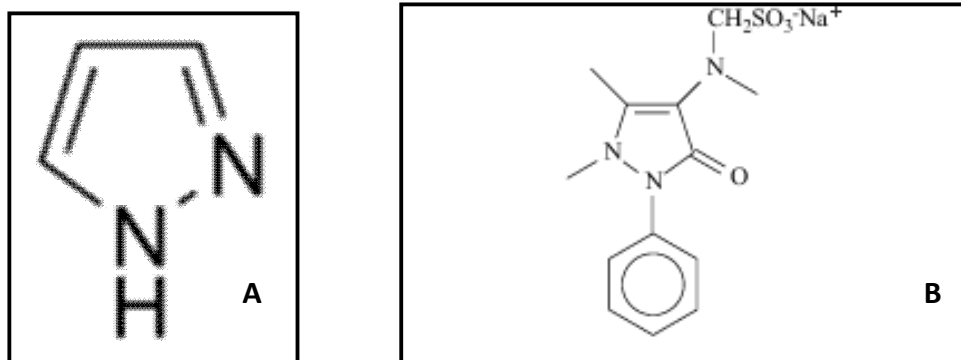
Os inibidores específicos da isoenzima Cox-2 foram disponibilizados no mercado em 1999, abrindo assim a possibilidade de proporcionar benefícios anti-inflamatórios e analgésicos, deixando teoricamente a atividade gastroprotetora da isoenzima Cox-1 intacta (Ong *et al.*, 2007).

A síntese de Cox-2 é aumentada em processos inflamatórios, que podem ocorrer nas articulações, no endotélio vascular e tecido renal. Os inibidores seletivos da Cox-2 inibem a síntese da prostaglandina I<sub>2</sub>, que tem ação vasodilatadora e impede a adesão de leucócitos ao endotélio vascular (Bricks e Silva, 2005).

O rofecoxib e celecoxib, inibidores seletivos da Cox-2, são seguros quanto ao trato gastrointestinal (Brooks *et al.*, 1999; Radi, 2009). Pesquisadores acharam que o uso destes anti-inflamatórios iria reduzir as desvantagens do uso dos AINEs não seletivos, porém com o medicamento no mercado é que pode ser observado as reações adversas causada pelos inibidores seletivos da Cox-2. O uso diário de inibidores da isoenzima Cox-2 aumenta o risco de infarto do miocárdio (Hippisley-Cox e Coupland, 2005; Carvalho *et al.*, 2004; Araújo *et al.*, 2005). Os efeitos adversos desta classe culminaram com a retirada de alguns dos inibidores seletivos de Cox-2 do mercado mundial e restrição ao uso de outros pelos órgãos de fiscalização.

Dentre os anti-inflamatórios não esteroidais estão os pirazóis bem representados pela fenilbutazona e pela dipirona (figura 5B) além da antiipiurina, oxifenbutazona e a amonopirina (Roberts, L. J e Morrow, J. D. 2005). Os derivados

anel pirazol (figura 5A) que é um heterociclo com cinco membros de carbono.



**Figura 5:** (A) anel pirazol; (B) Fórmula estrutural da dipirona.

Os derivados pirazolínicos foram descobertos por volta de 1884 pelo químico alemão Ludwig Knorr quando ele tentava sintetizar derivados da quinolona com atividade antipirética e acidentalmente obteve a antipirina, uma pirazolona com atividade analgésica, antipirética e anti-reumática. Desde então outros compostos pirazólicos passaram a ser sintetizados com intuito de diminuir a toxicidade, sendo que a mais descrita é a agranulocitose fatal (Oliveira, 2009).

Em 1921, o laboratório Hoechst obteve a dipirona, uma pirazolona, pela substituição de uma das metilas do grupo amino da 5-pirazolona por metilenosulfoxilato de sódio (Oliveira, 2009). A dipirona é um potente analgésico utilizado para dores de pós-operatório, enxaqueca e cólicas renais (Edwards *et al.*, 2001; Edwards *et al.*, 2002; Ramacciotti *et al.*, 2007). Um dos mecanismos atribuídos a dipirona é a inibição da Cox e alguns estudos têm demonstrado a preferência da dipirona pela isoenzima Cox-2 (Pierre *et al.*, 2007; Campos *et al.*, 1999). Uma ação central também pode estar envolvida no mecanismo de ação desta substância mais precisamente na substância cinzenta periaquedutal, podendo até mesmo ativar o sistema opióide (Carlsson *et al.*, 2003; Hernández e Vanegas, 2001). Apesar da boa atividade analgésica da dipirona seu uso é restrito em alguns países ou até mesmo

ter como reação adversa a agranulocitose fatal.

para esclarecer a ocorrência desta reação adversa, alguns mostram que a agranulocitose fatal só ocorre com o uso frequente de doses altas do medicamento e outros mostram que a ocorrência é alta mesmo com o uso não frequente (Ibanez *et al.*, 2005; Garcia *et al.*, 2006). Em meados de 1940 compostos mais seguros desta classe foram sintetizados como a fenilbutazona, um potente anti-inflamatório, muito utilizado para o tratamento de artrite reumatóide (Oliveira, 2009).

O mais recente derivado pirazólico colocado no mercado foi o celecoxibe um bom anti-inflamatório utilizado para o tratamento da artrite, porém seu uso foi restrito por apresentar reações adversas cardiovasculares.

Outra forma de um fármaco exercer a atividade anti-inflamatória é a inibição da enzima fosfolipase A<sub>2</sub>, esta é a ação indireta dos glicocorticóides. Estes fármacos induzem em nível celular a formação de lipocortina (anexina), a qual inibe a fosfolipase A<sub>2</sub>.

Apesar do mecanismo de ação dos AINEs não estar relacionado com a ação da fosfolipase A<sub>2</sub>, muitos estudos de modificação molecular utilizam moléculas de AINEs para inibirem esta enzima. Estudos recentes têm relatado que a fosfolipases A<sub>2</sub> secretada (sPLA<sub>2</sub>) desempenha um papel importante em várias condições inflamatórias e, portanto, representam um alvo terapêutico promissor para o desenvolvimento de novos medicamentos anti-inflamatórios (Gaston *et al.*, 1995).

Por outro lado, existem moléculas que possuem atividade anti-inflamatória em estudo, mas não estão disponíveis no mercado como fármacos, como por exemplo o 4-nerolidilcatecol que é um metabólito secundário de espécies vegetais *Piper peltatum* e *Piper umbellatum*, plantas usadas pela população. Esta molécula tem sua ação inibitória sobre a atividade da enzima PLA<sub>2</sub> comprovada *in vitro*, além de uma ação antioxidante (Núñez *et al.*, 2005).



*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

# *OBJETIVOS*

#### 4.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar as atividades farmacológicas, de um derivado pirazólico e de um derivado da molécula do 4-nerolidilcatecol, sintetizados no Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal da Faculdade de Farmácia (LQFM) – UFG, utilizando diferentes modelos de dor e inflamação *in vivo*.

#### 4.2 Objetivos específicos

Avaliar o derivado da molécula do 4-nerolidilcatecol – LQFM-015 em teste de geral de atividade farmacológica.

Avaliar a atividade antinociceptiva do LQFM-015 em diferentes modelos nocicepção.

Avaliar a atividade anti-inflamatória de LQFM-015 em diferentes modelos de inflamação.


Avaliar o possível mecanismo de ação anti-inflamatório de LQFM-015.

Avaliar a atividade do LQFM-015 no sistema nervoso central.

Avaliar a atividade antinociceptiva do derivado pirazólico - LQFM-002 em diferentes modelos de nocicepção.

Avaliar o possível mecanismo de ação anti-inflamatório de LQFM-002.

Avaliar a atividade do LQFM-002 no sistema nervoso central em camundongos.



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

# *CAPÍTULO I*

## 1 INTRODUÇÃO

Os metabólitos das plantas usadas pela população como medicamentos são fontes de moléculas para o desenvolvimento de novos fármacos levando os investimentos técnico-científicos na modificação de tais moléculas pelos laboratórios de sínteses, na busca da melhora da atividade farmacológica ou de vias inovadoras para a terapêutica. O 4-nerolidilcatecol é um subtipo do metabólito presente em *Piper umbellatum* e *Piper peltatum* da família Piperaceae. Plantas desta família são usadas popularmente como diurético, febrífugo, laxativo, anti-inflamatório e para doenças do fígado (Zamora-Martinez e Pola, 1992; Akendengue e Louis, 1994). Extrato das folhas de *Piper peltatum* com a presença do 4-nerolidilcatecol (figura 6), demonstrou atividade anti-edematogênica quando testado no modelo de edema de pata induzido por carragenina em ratos (Desmarchelier *et al.*, 2000). Foi demonstrado por Núñez *et al.* em 2005 que 4-nerolidilcatecol é capaz de inibir *in vitro* a ação da enzima fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), esta inibição é uma ação direta não dependente de metabolismo celular. A ação anti-inflamatória de *Piper umbellatum* e *Piper peltatum* pode estar relacionada a inibição desta enzima. O 4-nerolidilcatecol é uma molécula de difícil reprodução em laboratório. Dessa forma investiu-se na síntese de outras moléculas com base na estrutura do 4-nerolidilcatecol com a expectativa que a sua ação inibitória direta na enzima PLA<sub>2</sub> fosse mantida. O LQFM-015, (E) -4-(6-dienil,3,7-dimetilocta-2) (aminometil) fenol, (figura 7) foi obtido através de reações de síntese a partir do 4-nerolidilcatecol (Martins, 2009). Este derivado, LQFM-015, foi sintetizado com intuito de manter nesta molécula a propriedade de inibir a enzima PLA<sub>2</sub>. Em estudos anteriores em nosso laboratório LQFM-015 foi capaz de inibir a enzima PLA<sub>2</sub> de forma semelhante ao 4-nerolidilcatecol. A inibição da fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) foi avaliada pelo método de Harbermann e Hardt, 1972 e modificado para a quantificação da ação de fosfolipase e substâncias inibidoras (Gutiérrez *et al.*, 1988; Forte –Dias *et al.*, 1999). Nesse teste a fonte de fosfolipase A<sub>2</sub> é o veneno de *Bothrops moojima*, o meio ágar é enriquecido com gema de ovo e solução de CaCl<sub>2</sub>. A inibição máxima obtida com

controle positivo, a quercetina (6,66 mmol/mL) foi  
 em foi avaliado neste teste e sua inibição com a  
 maior concentração testada (11,93 mmol/mL) foi de 24,6% da PLA<sub>2</sub> (Martins, 2009).

A enzima fosfolipase A<sub>2</sub> hidrolisa os fosfolipídeos de membrana produzindo ácido araquidônico que por ação da ciclooxygenase dá origem a inúmeros eicosanóides, os quais são responsáveis pelos sinais da inflamação. A PLA<sub>2</sub> devido ao seu papel no início da cascata do ácido araquidônico tem se tornado um importante alvo farmacológico para a terapêutica anti-inflamatória.

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade anti-inflamatória de LQFM-015 em modelos animais de inflamação e dor, visto que sua atividade *in vitro* sobre a enzima PLA<sub>2</sub> sugere efeitos anti-inflamatório e/ou analgésicos.

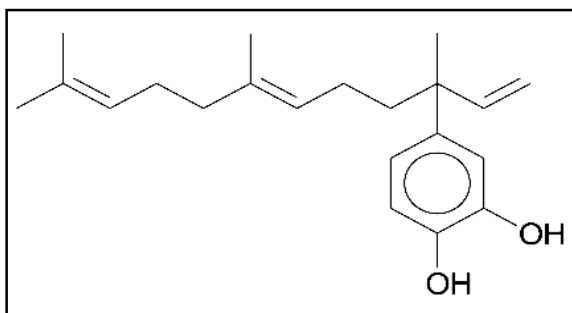


Figura 6: Estrutura do 4-nerolidilcatecol

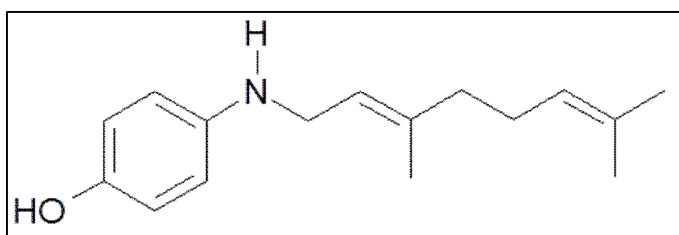


Figura 7: Estrutura do LQFM-015

## 2.1 Drogas e reagentes

Os reagentes e as drogas usadas neste estudo foram: solução de ácido acético a 0,6% (v/v) (Merck, USA); dexametasona (Prodome, Brasil); carragenina (Sigma Chemical, USA; 1%); diazepam (Cristália, Brasil); Veículo (DMSO 20%, p/v em salina); Indomethacin (Sigma); Dimorf® (Cristália-Ltda, Brasil); pentobarbital (Abbott, Brazil). Uma solução de formalina (3,0%) foi preparada com formaldeído – (Synth, Brasil) em solução de salina (NaCl 0,9%). LQFM-015 (PM: 245), solubilizada em solução de salina + DMSO 20%, p/v (sintetizada pelo laboratório de Química Farmacêutica Medicinal da Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Goiás - UFG).

## 2.2 Animais

Foram utilizados camundongos albinos Swiss (25-30g) machos provenientes do biotério central da UFG. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas com ração e água *ad libitum* a 22°C. O manuseio dos animais em todos os modelos experimentais foi executado de acordo com as normas propostas pela SBCAL/COBEA, e os protocolos aprovados pelo Comitê de ética em pesquisa da UFG (Protocolo nº 182/10) - Anexo I.

## 2.3 Teste Farmacológicos

### 2.3.1 Teste Geral de atividade

Os grupos de camundongos foram divididos segundo as vias de tratamento, oral, intra-peritoneal e subcutânea, cada grupo era composto por 20 animais. Cada cinco animais do grupo foram tratados com veículo (10 mL/kg) ou com as diferentes doses de LQFM-015 (30, 150 e 750 µmol/kg). Após os tratamentos, os animais foram observados em deambulação livre sobre superfície plana, durante 3 minutos, nos tempos de 5, 10, 20, 30 e 60 minutos; 4, 8, 24 e 48 horas e após 4 e 7 dias do tratamento. Os efeitos observados nos animais que receberam LQFM-015, que os diferenciaram dos animais controle, foram anotados em ficha padrão de triagem farmacológica adaptada daquela descrita por Malone, 1977.

por ácido acético

Abdominais em camundongos seguiu a metodologia descrita por Koster *et al*, (1959), no qual as contorções são induzidas por ácido acético. Cinco grupos de camundongos ( $n = 10$ ) foram tratados por via oral com LQFM-015 (100, 200 e 400  $\mu\text{mol/kg}$ ), ou veículo (10 mL/kg) ou indometacina (28  $\mu\text{mol/kg}$ ). Após 60 minutos todos os animais receberam por via intraperitoneal ácido acético 0,6 % v/v (10 mL/kg). Após a aplicação de ácido acético as contorções abdominais foram contadas durante 30 minutos e os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. (Erro Padrão da Média) de cada grupo experimental em valores percentuais relativo ao grupo controle, tratado com veículo.

### 2.3.3 Teste do Campo Aberto

Foram utilizados cinco grupos de 10 camundongos, tratados previamente pela via oral com veículo (10 mL/kg), LQFM-015 (155 e 750  $\mu\text{mol/kg}$ ) ou com diazepam (17,5  $\mu\text{mol/kg}$ ). Sessenta minutos após o tratamento, os animais foram colocados no centro do campo-aberto e foram observados durante 5 minutos, sendo avaliada a atividade exploratória dos animais (número total de quadrados invadidos), o número total do levantar sobre as patas posteriores (*rearings*), o número de comportamentos de auto-limpeza (*groomings*), o número de bolos fecais e o tempo total que os animais permaneceram parados (Archer, 1973). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. de cada grupo experimental.

### 2.3.4 Teste da Barra Giratória

Neste teste os animais são pré-selecionados 24 horas antes do teste onde devem apresentar um tempo de permanência de 2 minutos sobre a barra giratória (12 rpm). Quatro grupos de animais pré-selecionados ( $n = 10$ ) foram tratados por via oral com veículo (10 mL/kg), com LQFM-015 (155 e 750  $\mu\text{mol/kg}$ ) ou com diazepam (17,5  $\mu\text{mol/kg}$ ). Após 60 minutos dos tratamentos os animais foram submetidos ao *rota rod*, sendo avaliados o número de quedas e o tempo de permanência na barra giratória, sendo que o tempo máximo de permanência permitido foi de 1 minuto. O número máximo de quedas permitidas foi de três, sendo que após a terceira, o animal não mais

(Duham e Miya, 1957). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. de cada grupo experimental.

### 2.3.5 Sono Induzido por Pentobarbital Sódico

Foram utilizados quatro grupos de 10 camundongos, tratados previamente pela via oral com veículo (10 mL/kg), com LQFM-015 (155 e 750  $\mu\text{mol/kg}$ ) ou com diazepam (17,5  $\mu\text{mol/kg}$ ). Após 60 minutos dos tratamentos, os animais receberam pentobarbital sódico (150  $\mu\text{mol/kg}$  i.p.), sendo cronometrados os tempos de indução e recuperação do sono. A perda e a recuperação do reflexo postural foram tomados como indicativo do início e final do sono (Carlini e Burgos, 1979). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. de cada grupo experimental, em segundos para latência e minutos para duração do sono.

### 2.3.6 Dor induzida por formalina

No modelo de dor induzida por formalina (3,0 %, v/v), 20  $\mu\text{L}$  do agente flogístico foram aplicados subcutaneamente na pata traseira direita dos camundongos (n=7, por grupo) pré-tratados oralmente (60 minutos) com veículo (10 mL/kg), LQFM-015 (100, 200 ou 400  $\mu\text{mol/kg}$ ), indometacina (28  $\mu\text{mol/kg}$ ) ou subcutaneamente com morfina (35  $\mu\text{mol/kg}$ ). Os animais foram observados durante 30 minutos. Neste teste o comportamento nociceptivo evidencia duas fases distintas: a primeira de 0 – 5 minutos (fase de dor neurogênica) e a segunda de 15 – 30 minutos (fase de dor inflamatória), sendo determinado o tempo em segundos de lambida na pata injuriada nestes dois intervalos (Hunskar e Hole, 1987). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. de cada grupo experimental, em segundos.

### 2.3.7 Edema de pata induzido por carragenina

A atividade anti-inflamatória foi avaliada pelo método do edema de pata induzido por carragenina, em camundongos, proposto por Winter *et al.* (1962). Grupos de nove animais pré-tratados por via oral com veículo (10 mL/kg), indometacina (28  $\mu\text{mol/kg}$ ) ou LQFM-015 (100, 200 e 400  $\mu\text{mol/kg}$ ) receberam, após sessenta minutos, a aplicação do agente flogístico (carragenina 1%, 50  $\mu\text{L}$ ) na pata traseira direita e igual

esquerda. O edema formado foi avaliado pela (medido por pletismografia 1, 2, 3 e 4 horas) de cada animal, após a aplicação do agente flogístico. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. de cada grupo experimental em valores percentuais relativos ao volume das patas tratadas com salina.

### 2.3.8 Teste de pleurisia induzida com carragenina

Os animais ( $n = 9$  por grupo) foram tratados pela via oral com veículo (10 mL/kg), LQFM-015 (155  $\mu\text{mol/kg}$ ) ou dexametasona (5,1  $\mu\text{mol/kg}$ ). Uma hora após o tratamento a pleurisia foi induzida pela injeção intrapleural de 0,1 mL de carragenina a 1%, pelo espaço intercostal das costelas inferiores da caixa torácica (Vinegar *et al.*, 1973). Quatro horas após a aplicação do agente flogístico os animais foram submetidos à eutanásia, a cavidade torácica foi aberta e um pequeno corte foi feito no diafragma, logo abaixo do apêndice xifóide. Em seguida, a cavidade pleural foi lavada com 1 mL de solução de PBS (pH 7,6) heparinizado. O número de leucócitos totais foram determinados em câmara de Neubauer, sob microscopia óptica. Parte do lavado pleural recolhido foi usado para avaliar a atividade de enzima mieloperoxidase. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM.

### 2.3.9 Doseamento da enzima mieloperoxidase

Para a dosagem dos níveis de mieloperoxidase, foi utilizado o método de Saleh, *et al.* 1999, com poucas alterações. Amostras do lavado pleural de animais pré-tratados pela via oral com veículo (10 mL/kg), LQFM-015 (155  $\mu\text{mol/kg}$ ) ou indometacina (28  $\mu\text{mol/kg}$ ), coletadas imediatamente após a abertura da cavidade pleural foram utilizadas para a dosagem da enzima mieloperoxidase, 20  $\mu\text{L}$  do lavado pleural de cada animal foram transferidos para os poços de microplacas. A reação foi iniciada com a adição de 180  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato pH = 6,0 contendo 0,167 mg/mL de o-dianisidina 2HCl e 0.0005%  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Sedgwick, 1995) e após 15 minutos interrompida com a adição de 10  $\mu\text{L}$  de azida sódica a 1%. As amostras foram centrifugadas durante 5 minutos à 1000 rpm, e 100  $\mu\text{L}$  dos sobrenadantes transferidos para os poços de microplacas. As absorbâncias foram determinadas em leitor de ELISA no comprimento



**PDF**  
Complete

*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

curva-padrão com peroxidase (0,625–100 mU/mL) de mieloperoxidase presente nas amostras. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM.

#### 2.4 Análise estatística

Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM em valores absolutos ou percentuais relativos ao grupo controle. As diferenças foram detectadas por análise paramétrica no teste análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Student-newman-Keuls (Sokal e Rohlf, 1981) e na análise não paramétrica foi utilizado o teste Kruskal-Wilis seguido de teste Dun. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

### 3.1 Teste geral de atividade

Com a administração de LQFM-015 30; 150 ou 750  $\mu\text{mol/kg}$ , intraperitoneal, foi observado diminuição da atividade motora espontânea e analgesia proporcionalmente as doses testadas a partir de 10 e a partir dos 20 minutos pela via subcutânea. O tratamento com LQFM-015 (750  $\mu\text{mol/kg}$ ) intra-peritonealmente causou também contorções abdominais e alienação ambiental aos 30 minutos dos tratamentos. Foi observado pela via oral que os tratamentos com LQFM-015 apresentaram analgesia aos 20 minutos.

### 3.2 Contorções abdominais induzidas por ácido acético

Os tratamentos com LQFM-015 100, 200 ou 400  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o. reduziram as contorções abdominais para  $76,3 \pm 4,9$ ;  $69,5 \pm 6,9$ ;  $59,9 \pm 5,2$  % respectivamente, em relação ao grupo tratado com veículo ( $91,92 \pm 2,69$ ). Indometacina reduziu o número de contorções abdominais para  $53,7 \pm 5,54$  % ( $p < 0.05$ ), (Fig. 1).

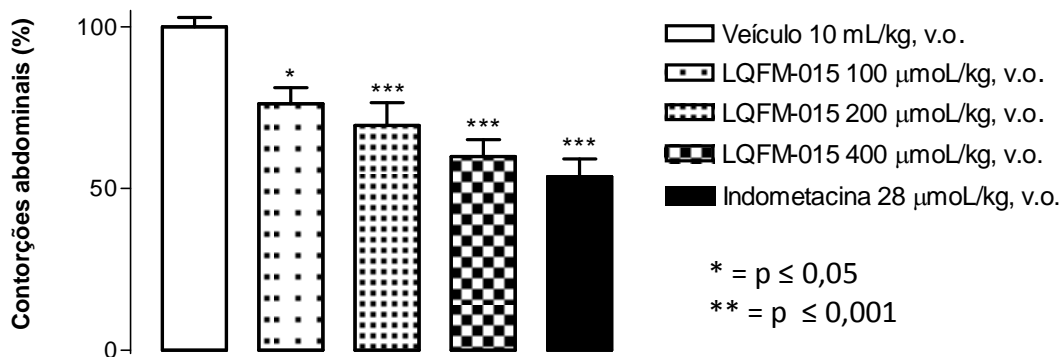


Figura 1: Efeito de LQFM-015 (100, 200 e 400  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o no número de contorções abdominais de camundongos, induzidas por ácido acético (0,6 %, v/v) acumuladas em 30 minutos. A indometacina (28  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o.) foi usada como controle positivo do teste. As colunas e barras verticais representam média  $\pm$  E.P.M. ( $n = 10$ ) em valores percentuais relativo ao grupo controle (veículo 10 mL/kg, v.o.). \* $p \leq 0,05$  e \*\*\*  $p \leq 0,001$  indicam o nível de significância das diferenças quando comparado com ao grupo controle utilizado.

### 3.3 Teste do campo aberto

Os tratamentos com LQFM-015 155 ou 750  $\mu\text{mol/kg}$  não alteraram o número total de quadrados invadidos, o número de comportamento de levantar sobre patas

número de bolos fecais e o tempo que os animais aberto. Diazepam 17,5 µmol/kg reduziu todos os parâmetros observados neste teste exceto o tempo parado no campo e o número de auto-limpeza (tabela 1).

### 3.4 Barra giratória

Nenhum dos tratamentos com LQFM-015 aumentou o número de quedas no teste da barra giratória, enquanto que, o diazepam 17,5 µmol/kg aumentou significativamente o número de quedas neste teste (Tabela 1).

**Tabela 1: Efeito de LQFM-015 nos testes de campo aberto e rota-rod após o tratamento oral.**

Tratamento (µmol/kg)	Parâmetros do campo aberto				Rota-rod (quedas)
	Deambulação	Levantadas	Auto-limpeza	Parado (s)	
Veículo	142,37 ± 9,32	61,9 ± 6,22	7,00 ± 0,69	4,86 ± 1,06	0,2 ± 0,13
LQFM-015 155	115,43 ± 5,9	54,62 ± 3,84	7,77 ± 0,81	5,71 ± 1,3	0,1 ± 0,1
LQFM-015 750	116,14 ± 8,47	69,00 ± 5,71	5,88 ± 0,69	10,33 ± 2,12	0,2 ± 0,2
Dz 17,5	58,0 ± 8,07*	20,29 ± 4,21 *	5,37 ± 0,70	69,66 ± 5,96*	1,4 ± 0,2*

Resultados expressos como média ± EPM de dez camundongos. Tratados com veículo 10 mL/kg, v.o. (controle), LQFM-015 155 ou 750 µmol/kg, v.o. ou DZP (Diazepam, 17,5 µmol/kg, v.o.). \* $P \leq 0,05$ , quando comparado ao grupo controle.

### 3.5 Sono Induzido por Pentobarbital Sódico

Nenhum dos tratamentos com LQFM-015 aumentou a latência ou tempo de duração do sono barbitúrico. O tratamento com diazepam 17,5 µmol/kg reduziu a latência e aumentou a duração do sono (tabela 2).

### LQFM-015 no tempo de sono em os ao teste de sono induzido por

Tratamento ( $\mu\text{mol/kg}$ )	Parâmetro	
	Latência ao sono (seg.)	Tempo de sono (min.)
Veículo	252,12 $\pm$ 8,56	57,75 $\pm$ 2,62
LQFM-015 155	248,10 $\pm$ 10,72	58,0 $\pm$ 2,60
LQFM-015 750	228,00 $\pm$ 3,51	67,00 $\pm$ 3,30
Dz 17,5	179,2 $\pm$ 7,85 *	127,00 $\pm$ 5,39 *

Resultados expressos como média  $\pm$  EPM de dez camundongos. Tratados com veículo 10 mL/kg, v.o. (controle), LQFM-015 155 ou 750  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o. ou DZ (Diazepam, 17,5  $\mu\text{mol/kg}$  v.o.). \*P  $\leq$  0,05, quando comparado ao grupo controle.

### 3.6 Teste de Formalina

Na primeira fase (0-5 min.) do modelo de dor induzida pela formalina, os tratamentos com LQFM-015 nas doses de 100; 200 ou 400  $\mu\text{mol/kg}$  v.o. ou Indometacina (28  $\mu\text{mol/kg}$  v.o.) não reduziram significativamente o tempo de reatividade à dor, sendo de 59,1  $\pm$  4,3; 55,8  $\pm$  7,0; 38,7  $\pm$  5,7 e 62,3  $\pm$  4,7 segundos respectivamente e no grupo controle (veículo 10 mL/kg v.o.) foi de 56,2  $\pm$  5,7 segundos. Morfina (35  $\mu\text{mol/kg}$  s.c.) reduziu este tempo para 1,11  $\pm$  0,63 segundos. Na segunda fase (15-30 min) os tratamentos com o LQFM-015 nas doses de 100; 200 ou 400  $\mu\text{mol/kg}$  v.o. ou Indometacina (28  $\mu\text{mol/kg}$  v.o.) ou Morfina (35  $\mu\text{mol/kg}$  s.c.) reduziram o tempo de reatividade à dor de 164  $\pm$  6,8 para 94,3  $\pm$  23,6; 68,3  $\pm$  21,3 e 52  $\pm$  11,2; 77,0  $\pm$  15,5 e 0,3  $\pm$  0,2 segundos, respectivamente (figura 2).

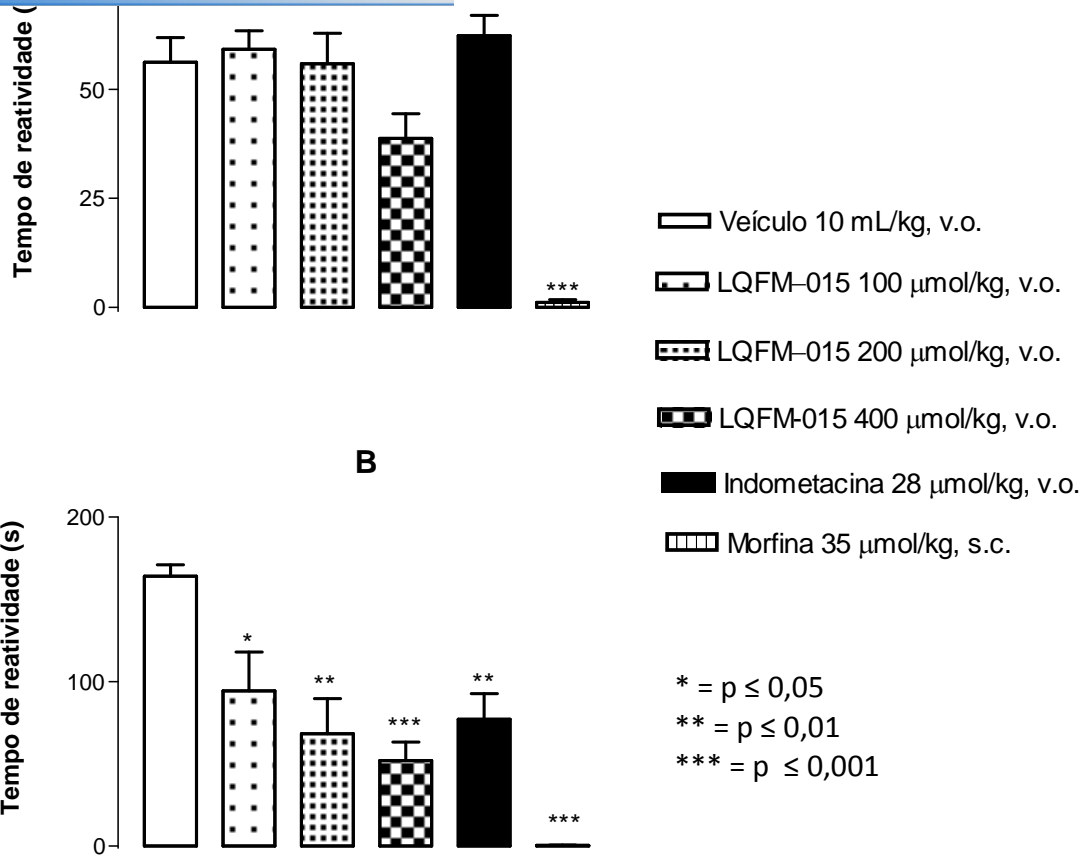


Figura 2: Efeito de LQFM-015 (100, 200 e 400 µmol/kg, v.o.) no modelo de dor induzida por formalina, A) primeira fase (0-5 min) e B) segunda fase (15-30 min). As Colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  EPM, do tempo de reatividade a dor dos animais (n=7) expresso em segundos. Indometacina (28 µmol/kg, v.o.) e morfina (35 µmol/kg, s.c.) foram utilizadas como controles positivos. \* =  $p \leq 0,05$ , \*\* =  $p \leq 0,01$  e \*\*\* =  $p \leq 0,001$ . indicam o nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle.

### 3.7 Edema de pata induzido por carragenina

No edema de pata induzido por carragenina, os tratamentos com LQFM-015 (100, 200 e 400 µmol/kg, v.o.) ou Indometacina (28 µmol/kg) não alteraram o edema (%) na 1ª hora. Os valores percentuais foram de  $45,1 \pm 6,6$ ;  $55,3 \pm 6,2$ ;  $53,7 \pm 3,9$ ;  $51,7 \pm 4,2$ , respectivamente e no grupo controle (veículo) foi de  $57,9 \pm 7,3$ . Na 2ª hora estes tratamentos reduziram o edema de  $93,1 \pm 6,7$  (controle) para  $45,0 \pm 5,5$ ;  $55,6 \pm 9,2$ ;  $44,4 \pm 3,2$  e  $50,4 \pm 2,8$ , respectivamente. Na 3ª hora também ocorreu redução do edema de  $75,9 \pm 3,8$  (controle) para  $45,9 \pm 5,6$ ;  $49,5 \pm 5,7$ ;  $38,7 \pm 6,0$  e  $50,5 \pm 3,3$ , respectivamente. Após a 4ª hora não houve redução do edema, sendo de  $61,0 \pm 6,0$

$\pm 2,5$ ;  $63,8 \pm 4,2$ ;  $47,3 \pm 3,69$  e  $56,2 \pm 6,5$  ados (figura 3).

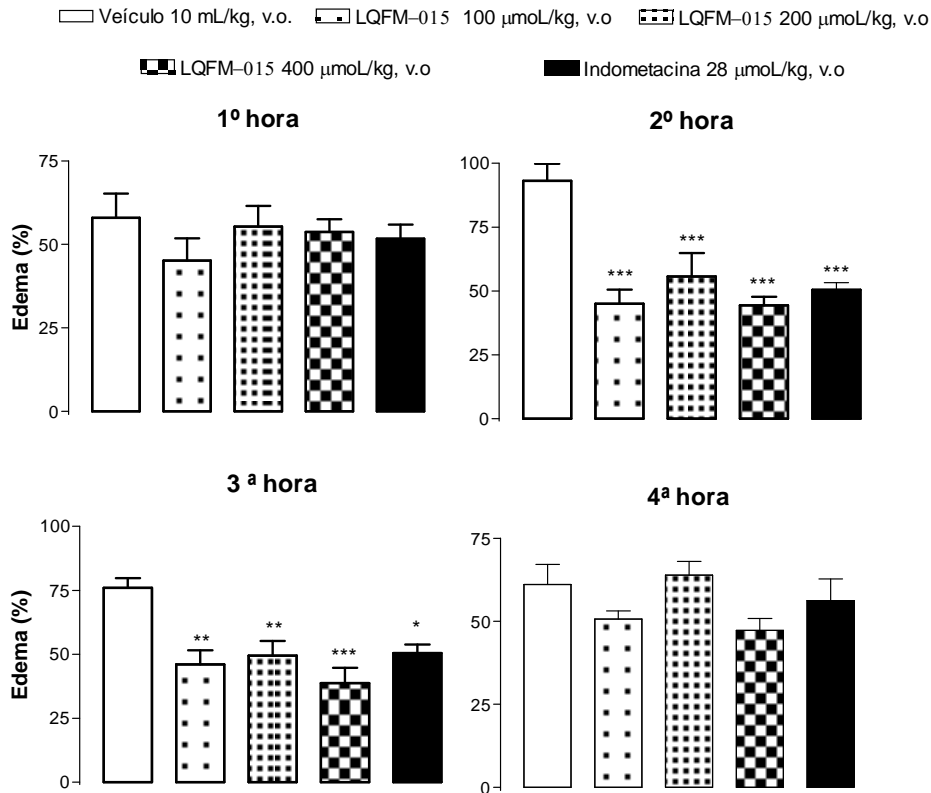


Figura 3: Efeito de LQFM-015 (100, 200 e 400 µmol/kg, v.o.) e indometacina (28 µmol/kg, v.o.) no edema de pata em camundongos induzido por carragenina. Cada barra representa média  $\pm$  E.P.M., (n = 9) das diferenças de volume entre as patas de cada animal em valores percentuais. \* =  $p \leq 0,05$ , \*\* =  $p \leq 0,01$  e \*\*\* =  $p \leq 0,001$ , indicam o nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o grupo controle.

### 3.8 Pleurisia induzida por carragenina em camundongos

Na pleurisia induzida por carragenina, os tratamentos prévios (v.o.) com LQFM-015 (155 µmol/kg) ou dexametasona 5,1 µmol/kg reduziram o número de leucócitos totais  $\times 10^6$ /mL migrados para a cavidade pleural de  $4,74 \pm 0,31$  para  $3,48 \pm 0,33$  e  $1,34 \pm 0,17$  respectivamente (figura 4).

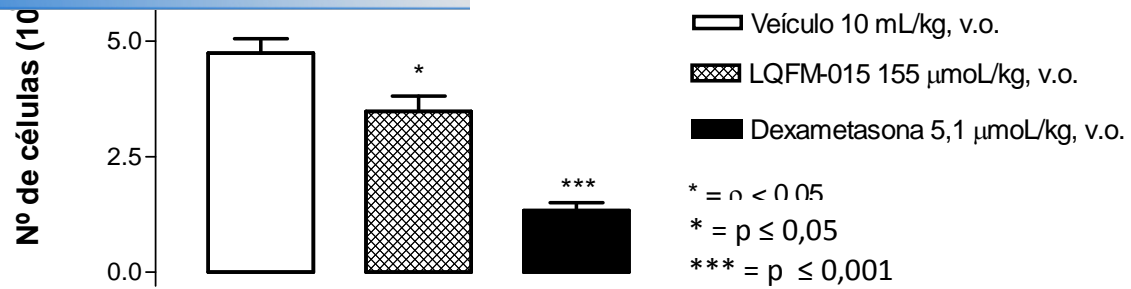


Figura 4: Efeito de LQFM-015 (155 µmol/kg, v.o.) e dexametasona (5,1 µmol/kg, v.o.) na migração leucocitária avaliada no método de pleurisia induzida por carragenina em camundongos. As colunas e barras representam as médias ± E.P.M. (n = 8), do número de leucócitos totais migrados/mL. \*  $p \leq 0,05$  and \*\*\*  $p \leq 0,001$  indicam o nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o grupo controle.

### 3.9 Doseamento da enzima mieloperoxidase (MPO)

A atividade de MPO no exsudato pleural foi reduzida por LQFM-015 de 1060,91 ± 110,04 mU/mL (grupo controle) para 460,41 ± 100,85 mU/mL. Indometacina diminuiu para 560,0 ± 60,25 mU/mL (figura 5).

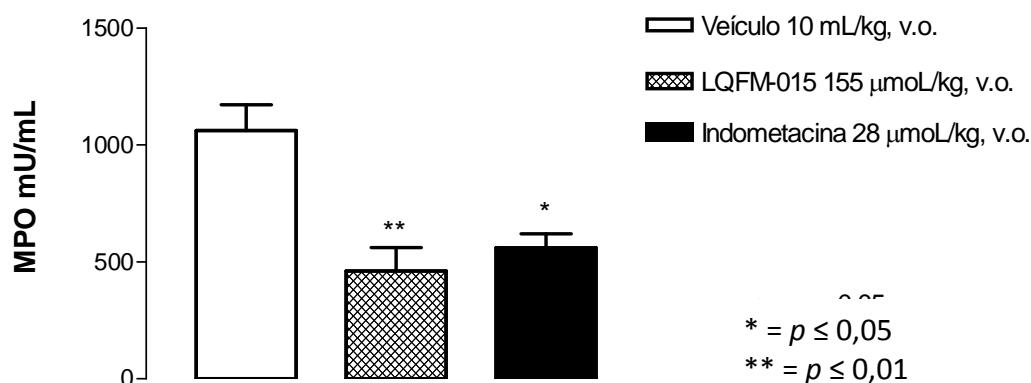


Figura 5: Efeito de LQFM-015 (155 µmol/kg, v.o.) e indometacina (28 µmol/kg, v.o.) na atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) avaliada no método de pleurisia induzida por carragenina em camundongos. As colunas e barras representam as médias ± E.P.M., (n = 8), do número de leucócitos totais migrados/mL. \*  $p \leq 0,05$  and \*\*  $p \leq 0,01$  indicam o nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o grupo controle.

farmacológica, baseada na ficha de identificação de alterações descrita por Malone (1977), é considerado o passo inicial na pesquisa sobre a atividade farmacológica de moléculas novas que possam vir a se destacar como protótipos de fármacos. Com a observação de sinais ou alterações comportamentais, que diferencie os grupos tratados dos animais controles, pode ser identificado ou sugerido alguma atividade no sistema nervoso central ou possíveis ações neurotóxicas, além de alterações relacionadas aos sistemas periféricos que venham auxiliar na escolha da via de administração, bem como a faixa de doses adequadas para os demais testes biológicos *in vivo* (Carlini, 1972; Almeida *et al.*, 1999; Mattei e Franca, 2006). Os resultados obtidos neste teste foram sugestivos de efeito analgésico, porém podendo resultar também de uma atividade depressora no sistema nervoso devido principalmente à diminuição da atividade motora espontânea, ou esta atividade poderia decorrer de uma ação miorelaxante central ou periférica.

Buscando caracterizar o efeito analgésico sugerido no teste geral de atividades farmacológicas, LQFM-015 foi avaliado no modelo de contorções induzidas por ácido acético. Este é um modelo de dor visceral muito utilizado para avaliar a atividade antinociceptiva periférica (Verma *et al.*, 2005; Du *et al.*, 2007). Após a injeção intraperitoneal de um agente nocivo, o animal mostra uma resposta que consiste em uma onda de contração e alongamento passando caudalmente ao longo da parede abdominal, por vezes acompanhada de torção do tronco e seguido por extensão dos membros pélvicos, chamada de contorções abdominais (Collier *et al.*, 1968). Pesquisas realizadas por Deraedt *et al.*, 1980, descrevem a quantificação de prostaglandinas por radioimunoensaio no exsudato peritoneal de ratos, obtidos após injeção intraperitoneal de ácido acético, observando-se altos níveis de prostaglandinas PGE<sub>2a</sub> e PGF<sub>2a</sub> durante os primeiros 30 minutos após sua administração. A administração intraperitoneal de ácido acético induz a liberação de prostaglandinas, mas também a liberação de mediadores do sistema nervoso simpático (Duarte *et al.*, 1988; Borsato *et al.*, 2000). Desta forma é aceitável que moléculas com atividade anti-inflamatória mostrem um efeito neste modelo de dor periférica. A nocicepção causada pelo ácido acético é devida a liberação de citocinas como IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  (Ribeiro *et al.*, 2000). Os

io eficazes na inibição de contorções induzidas por .p., pois inibem a enzima cicloxigenase (Vane e Botting, 1998). Apesar da alta sensibilidade, este teste não é específico, pois além de não distinguir uma resposta antinociceptiva de uma resposta anti-inflamatória (Collier, *et al.*, 1968), ele é sensível a uma variedade de fármacos essencialmente não analgésicos, como anti-histamínicos parasimpatomiméticos, estimulantes do sistema nervoso central, inibidores da monoamino oxidase (MAOIs), antagonistas serotoninérgicos, relaxantes musculares e neurolépticos, podem também reduzir o número de contorções abdominais (Rates e Barros, 1994; Duarte *et al.*, 1988).

Os tratamentos com LQFM-015 100, 200 ou 400  $\mu\text{mol/kg}$  diminuíram significativamente o número de contorções abdominais. Esta redução foi de 24; 31 e 40% respectivamente. Este resultado sugere que este derivado possui atividade antinociceptiva. Porém é necessário verificar se as mudanças comportamentais, produzidas pelo tratamento com LQFM-015 no teste de contorções abdominais, não foram causadas por uma atividade antinociceptiva falso-positiva devido, por exemplo, a um efeito depressor central.

Comprometimento da atividade motora, efeito depressor central ou alterações comportamentais indicativas de mudança de emocionalidade ou atenção dos animais tratados com LQFM-015 poderiam resultar em efeito analgésico falso-positivo no teste de contorções. Os resultados observados nos testes de campo aberto, barra giratória e sono barbitúrico mostraram que LQFM-015, mesmo em dose superior às que demonstraram efeito analgésico, não causa alteração comportamental indicativo de ação central ou alteração da atividade motora que possa comprometer o efeito analgésico observado no teste das contorções. Estes resultados, com as doses utilizadas, também descartaram um efeito depressor central sugerido no teste geral de atividades farmacológicas.

Como LQFM-015 não alterou os parâmetros avaliados nos testes de triagem de central, reforçando desta forma a possibilidade de um real efeito analgésico, podendo o mesmo ser devido a uma ação anti-inflamatória, visto que em estudos anteriores esta molécula foi capaz de inibir a PLA<sub>2</sub> *in vitro* (Martins, 2009). A enzima fosfolipase A<sub>2</sub> é abundantemente encontrada em venenos de cobras e insetos assim como nos sucos

*et al.*, 1998). As fosfolipases A<sub>2</sub> secretadas (sPLA<sub>2</sub>s) importante função nas várias condições inflamatórias e portanto representa um importante alvo terapêutico. PLA<sub>2</sub>s (PLA<sub>2</sub>, EC.3.1.1.4) hidrolisa especificamente a ligação éster 2-acil de fosfolipídeos da membrana para a produção de ácido araquidônico que é usado como substrato para as enzimas ciclooxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX) (Smith *et al.*, 2000) resultando na produção de eicosanóides (Dennis, 1983). LQFM-015 demonstrou ter uma ação inibitória sobre a atividade da enzima fosfolipase A<sub>2</sub> (em aproximadamente 18%), sendo um possível alvo desta molécula para atuar como droga anti-inflamatória.

O teste de dor induzido por formalina, diferente do modelo de contorções abdominais, pode identificar fármacos com efeito analgésico dependente de uma ação anti-inflamatória. No modelo de dor induzida pela formalina podemos observar duas fases distintas de comportamento nociceptivo que são indicativos do envolvimento de diferentes mediadores. A primeira fase, também conhecida como fase de dor neurogênica, é caracterizada pela propagação imediata de impulsos para o sistema nervoso central sendo que é breve e ocorre durante os 5 primeiros minutos após a aplicação do agente flogístico. Ao agir nos receptores opióides, a morfina reduz o tempo nesta fase. Esta dor é causada pela ação direta da formalina, predominantemente nas fibras sensoriais aferentes C e em parte nas fibras aferentes A $\delta$  (Hunskar e Hole, 1987; Shibata *et al.*, 1989). A segunda fase é prolongada, 15-30 minutos após a injeção de formalina, e esta associada ao desenvolvimento de uma resposta inflamatória com liberação de mediadores inflamatórios (Shibata *et al.*, 1989). Esta fase é também conhecida como fase de dor inflamatória, podendo ser inibida por anti-inflamatórios como a indometacina. A redução do tempo de latência nesta fase pode ser devido à diminuição da biossíntese de prostaglandinas (Farsam *et al.*, 2000).

A literatura descreve que na primeira fase há liberação de diferentes mediadores químicos, como a substância P, o glutamato e a bradicinina e que na segunda fase os mediadores químicos liberados são: histamina, serotonina, prostaglandinas e bradicinina apesar das duas fases serem induzidas pelo mesmo

LQFM-015 mostrou atividade antinociceptiva apenas na segunda fase, confirmando ser desprovido de efeito analgésico central e possivelmente retentor de ação anti-inflamatória. Este efeito pode ser devido à inibição da síntese de mediadores responsáveis pela inflamação, como as prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos entre outros (Silva *et al.*, 2002). Este resultado confirma as propriedades anti-inflamatória desta molécula, já visto *in vitro* pela inibição da enzima fosfolipase A<sub>2</sub> (Martins, 2009).

O edema de pata induzido por carragenina é um dos modelos comumente usados para a investigação de novos agentes anti-inflamatórios (Villar *et al.*, 1987; Vinegar *et al.*, 1987). Este teste é realizado com a injeção subplantar de carragenina na pata posterior direita do animal e a injeção de salina na contralateral. A carragenina tem uma ação irritante, que provoca uma reação inflamatória. O desenvolvimento do edema de pata induzido por carragenina em ratos é comumente correlacionado com o exsudato precoce da inflamação, um dos importantes estágios da patologia do processo inflamatório (Liew e McInnes, 2002). A elevação do volume do edema de pata na primeira hora é devido a ação de histamina e serotonina na permeabilidade vascular (Garcia *et al.*, 1973; Vinegar *et al.*, 1987). A inflamação aumenta gradualmente e alcança picos entre 3 e 4 horas após a aplicação do agente flogístico. Esta segunda fase pode ser devida à liberação de prostaglandinas e cininas (bradicinina) no tecido das patas, que acompanha a migração leucocitária (Vane, 1971; Vinegar *et al.*, 1987; Campos e Calixto, 1995).

LQFM-015 nas doses testadas inibiu significativamente o edema de pata induzido por carragenina na segunda e terceira hora, mostrando que neste efeito podem estar envolvidos tanto uma redução ou inibição da serotonina e histamina quanto prostaglandina, mediadores mais presentes na fase tardia do edema de pata. O 4-nerolidicatecol também conseguiu reduzir o edema de pata induzido por veneno de cobra em ratos (Núñez *et al.*, 2005), sugerindo que esta propriedade anti-inflamatória esteja preservada na molécula LQFM-015 que é originada do 4-nerolidicatecol.

induzida por carragenina é capaz de avaliar o infiltrado de carragenina ocasiona a formação do exsudato na cavidade pleural (Ammendola *et al.*, 1975; Almeida *et al.*, 1980) e a migração leucocitária (Compasso *et al.*, 1975; Almeida *et al.*, 1980). Estudos mostram que as citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  têm um papel crítico no controle tanto da migração celular como da exsudação causada pela injeção de carragenina na cavidade pleural de camundongos (Frode *et al.*, 2001). Outros estudos demonstram que as concentrações de Cox-2 no exsudato aumentam durante a pleurisia (Tomlinson *et al.*, 1994) mostrando que esta enzima também está presente neste processo inflamatório.

A atividade anti-inflamatória de LQFM-015 foi confirmada com o teste de pleurisia induzida por carragenina. Este teste é sensível à fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e esteroidais (Saleh *et al.*, 1999 ). A carragenina causa um processo inflamatório agudo em animais com formação de exsudato, que contem leucócitos migrados e uma grande variedade de mediadores inflamatórios. O tratamento com LQFM-015 (155  $\mu$ mol/kg) reduziu em 26% o número de células migradas para o exsudato, confirmando possuir uma atividade anti-inflamatória podendo envolver nesta ação um efeito antagonista, ou a redução na liberação de mediadores inflamatórios os quais promovem a quimiotaxia de leucócitos, tais como, (MIP)-1 $\alpha$ , IL-8 e fator de plaquetas ( Frode *et al.*, 2001; Frode *et al.*, 2002).

A mieloperoxidase (MPO) é liberada por células ativadas no processo inflamatório, por exemplo, neutrófilos, sendo um parâmetro que pode ser usado para quantificar o grau de inflamação (Rosen e Michel, 1997). Esta enzima é encontrada nos grânulos azurófilos de neutrófilos e também em monócitos (Lanza, 1998). A ativação dos neutrófilos induz o metabolismo oxidativo caracterizado por um intenso consumo de oxigênio e produção de substâncias reativas como o ânion hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ). Dentre estas fontes geradoras do  $\text{OCl}^-$ , encontra-se o sistema  $\text{H}_2\text{O}_2$ -MPO, no qual a enzima mieloperoxidase reage com o  $\text{H}_2\text{O}_2$  formado pela ação da NADPH oxidase, culminando na formação da espécie reativa  $\text{OCl}^-$ . O hipoclorito é considerado um potente agente microbicida que possui papel importante na defesa do hospedeiro contra invasão de bactérias, fungos e vírus (Neve *et al.*, 2001; But *et al.*, 2002). Contudo, sob certas circunstâncias a liberação excessiva dessas espécies oxidantes



**PDF**  
Complete

*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*


[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

e lesão tecidual (Gaut *et al.*, 2001). LQFM-015  
ativas que dependem de MPO, visto que o grupo  
de animais pré-tratados com LQFM-015 mostrou uma redução de 66% na atividade da  
enzima presente no exudato pleural. A redução na atividade da mieloperoxidase foi  
mais intensa que a inibição da migração celular, sugerindo que a redução na atividade  
enzimática não é devida somente a uma diminuição no número de células no sítio  
inflamatório.

4-nerolidilcatecol, LQFM-015:

- Reduziu o número de contorções abdominais sugerindo uma possível ação antinociceptiva.
- Não causou alterações comportamentais indicativas de atividade no SNC.
- No teste de formalina reduziu o tempo de reatividade a dor somente na segunda fase, de forma dose dependente, sugerindo uma ação anti-inflamatória que justifica a resposta observada no modelo de contorções.
- Reduziu o edema de pata, diminui a migração leucocitária e a atividade da enzima mieloperoxidase nos modelo *in vivo* de inflamação aguda induzida por carragenina, confirmando o efeito anti-inflamatório desta molécula.
- Esta ação anti-inflamatória vista nos testes utilizados pode ser devido à inibição da atividade da enzima PLA<sub>2</sub>, vista em modelos *in vitro* (Martins, 2009) e da inibição de outra enzima envolvida no processo inflamatório como a mieloperoxidase.

Entretanto mais estudos são necessários para esclarecer por completo o mecanismo de ação responsável pelo efeito anti-inflamatório mostrado por LQFM-015 neste estudo.



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

## *Capítulo II*

## 1 INTRODUÇÃO

As duas classes de fármacos anti-inflamatórios esteróidais e não esteróidais (AINEs) são muito utilizadas pela população em doenças como artrite, lombalgias e outros distúrbios onde a dor e a inflamação estão presentes (Dubois *et al.*, 1998; Damiani *et al.*, 2001). Dentro da classe dos AINEs estão presentes os derivados pirazólicos que são potentes analgésicos e anti-inflamatórios. O modo de ação desta classe é principalmente a inibição da enzima ciclooxigenase, e as suas principais reações adversas são os distúrbios gastrointestinais, os pirazólicos como a dipirona e a fenilbutazona produzem outro efeito adverso a agranulocitose fatal (Roberts e Morrow, 2005). Os analgésicos e anti-inflamatórios existentes para uso clínico estão longe de serem ideais com maior especificidade, com menor toxicidade e com boas perspectivas para mitigar algumas modalidades de dor ainda de difícil terapêutica. Na busca por novos agentes anti-inflamatórios e/ou anti-nociceptivos que causem menos efeitos colaterais, novos derivados de núcleo pirazólicos têm se destacado como possíveis protótipos de fármacos (Miranda *et al.*, 1993 e Assogba *et al.*, 2005; Sauzem *et al.*, 2009; Gaston *et al.*, 1995). Como por exemplo, o celecoxibe, um derivado pirazólico, potente anti-inflamatório, inibidor seletivo da Cox-2 que entrou no mercado no fim do século XX (Kummer e Coelho, 2002).

Resultados anteriores com LQFM-002, (E)-N-(3,7-dimetilocta-2-6-dienil)-1,3-dimetil-1-H-pirazol-5-amina, um derivado pirazólico, mostraram a sua capacidade de inibir *in vitro* a fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), além de reduzir significativamente a migração celular em modelos de pleurisia induzida por carragenina em camundongos, mesma forma foi capaz de inibir a concentração de azul de Evans nesses exsudatos, sugerindo um efeito anti-inflamatório (Gomes, 2009). O objetivo deste trabalho foi caracterizar os efeitos analgésico e/ou anti-inflamatório desta molécula, em diferentes modelos “*in vivo*” em camundongos.

Os reagentes e as drogas usadas neste estudo foram: solução de ácido acético a 0,6% (v/v) (Merck, USA), dexametasona (Prodome, Brasil), carragenina (Sigma Chemical, USA; 1%), diazepam (Cristália, Brasil), Veículo (DMSO 20%, p/v em salina), Indomethacin (Sigma), Dimorf® (Cristália-Ltda, Brasil), pentobarbital (Abbott, Brazil). Uma solução de formalina (3.0%) foi preparada com formaldeído – (Synth, Brasil) em solução de salina (NaCl 0.9%). LQFM-002 (PM: 247,2), solubilizada em salina + DMSO 20% p/v (sintetizada pelo laboratório de Química Farmacêutica Medicinal da Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Goiás - UFG).

## 2.2 Animais

Foram utilizados camundongos albinos Swiss machos (25-30g) provenientes do biotério central da UFG. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas com ração e água *ad libitum* a 22°C. O manuseio dos animais em todos os modelos experimentais foi executado de acordo com as normas propostas pela SBCAL/COBEA, e os protocolos aprovados pelo Comitê de ética em pesquisa da UFG (Protocolo nº 182/10) – Anexo I.

## 2.3 Teste Farmacológicos

### 2.3.1 Contorção abdominal induzida por ácido acético

O teste de contorções abdominais em camundongos seguiu a metodologia descrita por Koster *et al.*, (1959), no qual as contorções são induzidas por ácido acético. Grupos de camundongos (n=9) foram tratados por via oral com LQFM-002 (200 µmol/kg), ou veículo (10 mL/kg) ou indometacina (28 µmol/kg), após 60 minutos. Todos os animais receberam por via intraperitoneal, ácido acético 0,6 % v/v (10 mL/kg). Após a aplicação de ácido acético as contorções abdominais foram contadas durante 30 minutos e os resultados foram expressos como média ± E.P.M. de cada grupo experimental em valores percentuais relativo ao grupo controle, tratado com veículo.

exsudato pleural de camundongos.

(n = 8) foram tratados oralmente com veículo (10 mL/kg), ou LQFM-002 (200  $\mu$ mol/kg) ou dexametasona (5,1  $\mu$ mol/kg). Uma hora após os tratamentos, os animais receberam uma injeção de carragenina 1% na cavidade pleural (100  $\mu$ L/cavidade) pelo espaço intercostal das costelas inferiores da caixa torácica. Quatro horas após a aplicação do agente flogístico, os animais foram submetidos à eutanásia com éter, a cavidade torácica foi aberta e um pequeno corte foi feito no diafragma, logo abaixo do apêndice xifóide. Em seguida, a cavidade pleural foi lavada com 1 mL de solução de PBS (pH 7,6) heparinizado. O líquido recolhido (exsudato) foi depositado em tubos Eppendorf® imersos em gelo. Parte do líquido recolhido da cavidade pleural foi centrifugado à 3000 rpm, durante cinco minutos a 4°C para determinar a concentração do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). A concentração de TNF- $\alpha$  no exsudato pleural foi determinada através de método imunoenzimático (kit de ELISA da eBioscience), de acordo com os protocolos do fabricante. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. em valores percentuais relativos ao grupo controle.

### 2.3.3 Dor induzida por formalina

No modelo de dor induzida por formalina (3,0 %, v/v), 20  $\mu$ L do agente flogístico foram aplicados subcutaneamente na pata traseira direita dos camundongos (n=7, por grupo), pré-tratados oralmente (60 minutos) com veículo (10 mL/kg), LQFM-002 (200  $\mu$ mol/kg), indometacina (28  $\mu$ mol/kg) ou subcutaneamente com morfina (35  $\mu$ mol/kg). Os animais foram observados durante 30 minutos. Neste teste o comportamento nociceptivo evidencia duas fases distintas: a primeira de 0 – 5 minutos (fase de dor neurogênica) e a segunda de 15 – 30 minutos (fase de dor inflamatória), sendo determinado o tempo de lambida na pata injuriada (em segundos) nestes dois intervalos (Hole e Hunskar, 1987). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. do tempo de reatividade a dor em segundos.

lico

por via oral com LQFM-002 (200, 400 e 800  $\mu\text{mol/kg}$ ), ou subcutaneamente com morfina (35  $\mu\text{mol/kg}$ ). Os animais foram colocados sobre a placa aquecida a 56<sup>o</sup> C. O tempo máximo de permanência para cada animal na placa foi de 20 segundos, para não causar danos teciduais aos animais. O tempo para reatividade à dor foi medido em segundos nos tempos: -60, zero, 30, 60, 90, 120 e 150 min. dos tratamentos.

O tempo em segundos que os animais levaram para morder, lambe ou levantar uma das patas traseiras foi cronometrado e considerado como latência para o comportamento nociceptivo, conforme descrito anteriormente por Woolfe e MacDonald, 1994. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. do tempo, em porcentagem relativa ao grupo controle considerado, como 100% de latência em cada momento avaliado.

#### 2.3.5 Teste do Campo Aberto

Foram utilizados grupos de 10 camundongos, tratados previamente pela via oral com veículo (10 mL/kg), LQFM-002 (800  $\mu\text{mol/kg}$ ) ou com diazepam (17,5  $\mu\text{mol/kg}$ ). Sessenta minutos após o tratamento, os animais foram colocados no centro do campo-aberto e foram observados durante 5 minutos, sendo avaliada a atividade exploratória dos animais (número total de quadrados invadidos), o número total do levantar sobre as patas posteriores (*rearings*), o número de comportamentos de auto-limpeza (*groomings*), o número de bolos fecais e o tempo total que os animais permaneceram parados (Archer, 1973). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. de cada grupo experimental.

#### 2.3.6 Teste da Barra Giratória

Neste teste os animais são pré-selecionados 24 horas antes do teste onde devendo apresentar um tempo de permanência de 2 minutos sobre a barra giratória (12 rpm). Grupos de animais pré-selecionados (n = 10) foram tratados por via oral, com veículo (10 mL/kg), LQFM-002 (800  $\mu\text{mol/kg}$ ) ou diazepam (17,5  $\mu\text{mol/kg}$ ). Após 60 minutos dos tratamentos os animais foram colocados na barra giratória, sendo

o tempo de permanência na mesma. O tempo foi de 1 minuto e o número máximo de quedas permitidas foi de três (Duham e Miya, 1957). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. de cada grupo experimental.

### 2.3.7 Sono Induzido por Pentobarbital Sódico

Foram utilizados grupos de 10 camundongos, tratados previamente pela via oral com veículo (10 mL/kg), com LQFM-002 (800  $\mu$ mol/kg) ou com diazepam (17,5  $\mu$ mol/kg). Após 60 minutos dos tratamentos, os animais receberam pentobarbital sódico (201  $\mu$ mol/kg i.p.), sendo cronometrados os tempos de indução e recuperação do sono. A perda e a recuperação do reflexo postural foram tomados como indicativo do início e final do sono (Carlini e Burgos, 1979). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. de cada grupo experimental, em segundos para latência e minutos para duração do sono.

### 2.4 Análise estatística

Os resultados foram expressos em média  $\pm$  E.P.M. (erro padrão da média) em valores absolutos ou percentuais relativos ao grupo controle. As diferenças foram detectadas por análise paramétrica no teste análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls (Sokal e Rohlf, 1981) e na análise não paramétrica foi utilizado Kruskal-Willis seguido de teste Dun. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p \leq 0,05$ .

s por ácido acético

O tratamento com LQFM-002 (200  $\mu\text{mol/kg}$ ), reduziu as contorções abdominais para  $85,7 \pm 3,89\%$  em relação ao grupo tratado com veículo ( $87,60 \pm 2,87$ ). Indometacina reduziu o número de contorções abdominais para  $56 \pm 5,2\%$  (Figura 1).

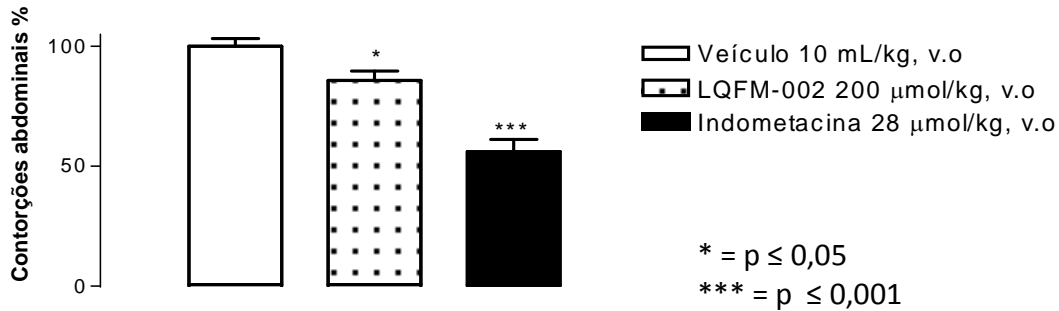


Figura 1: Efeito de LQFM-002 (200  $\mu\text{mol/kg}$ ), v.o no número de contorções abdominais de camundongos, induzidas por ácido acético (0,6 %, v/v) acumuladas em 30 minutos. A indometacina (28  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o.) foi usada como controle positivo do teste. As colunas e barras verticais representam média  $\pm$  E.P.M. (n = 9) em valores percentuais relativo ao grupo controle (Veículo 10 mL/kg, v.o.). \* $p \leq 0,05$  e \*\*\*  $p \leq 0,001$  indicam o nível de significância das diferenças quando comparado com o grupo controle utilizado.

### 3.2 Quantificação de TNF- $\alpha$ no exsudato pleural de camundongos

O tratamento com LQFM-002 (200  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o) foi capaz de reduzir os níveis de TNF- $\alpha$  para  $74,4 \pm 1,86\%$  quando comparado com veículo ( $58,41 \pm 3,59$  pg/mL) (Figura 2). Dexametasona reduziu as concentrações de TNF-  $\alpha$  para  $18,8 \pm 2,3$  pg/mL.

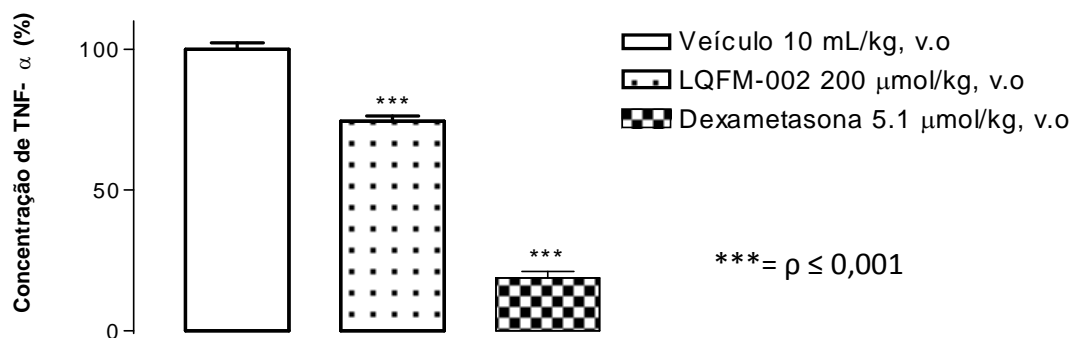


Figura 2: Efeito de LQFM-002 (200  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o.) na dosagem de TNF- $\alpha$  em exsudato pleural de camundongos com pleurisia induzida por carragenina. As Colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  E.P.M., da concentração de TNF- $\alpha$  no exsudato pleural dos animais (n=7). Dexametasona (5,1  $\mu\text{mol/kg}$ ) foi utilizada como controle positivo. \*\*\*  $p \leq 0,001$  indica o nível de significância das diferenças quando comparado com o grupo controle utilizado.

) do modelo de dor induzida por formalina, o tratamento com LQFM-002 na dose de 200  $\mu\text{mol/kg}$  ou morfina 35  $\mu\text{mol/kg}$  reduziram significativamente o tempo de reatividade à dor sendo de  $59 \pm 4,3$  e  $1,1 \pm 0,63$  s respectivamente, quando comparado com o grupo tratado com o veículo ( $93,0 \pm 7,5$  s). Na segunda fase (15-30 min) os tratamentos com o LQFM-002 (200  $\mu\text{mol/kg}$ ) ou Indometacina (28  $\mu\text{mol/kg}$  v.o.) ou Morfina (35  $\mu\text{mol/kg}$  s.c.) reduziram o tempo de reatividade à dor de  $231,6 \pm 18$  para  $124 \pm 26,2$ ;  $62,7 \pm 7,8$  e  $0,3 \pm 0,2$  s, respectivamente (Figura 3).

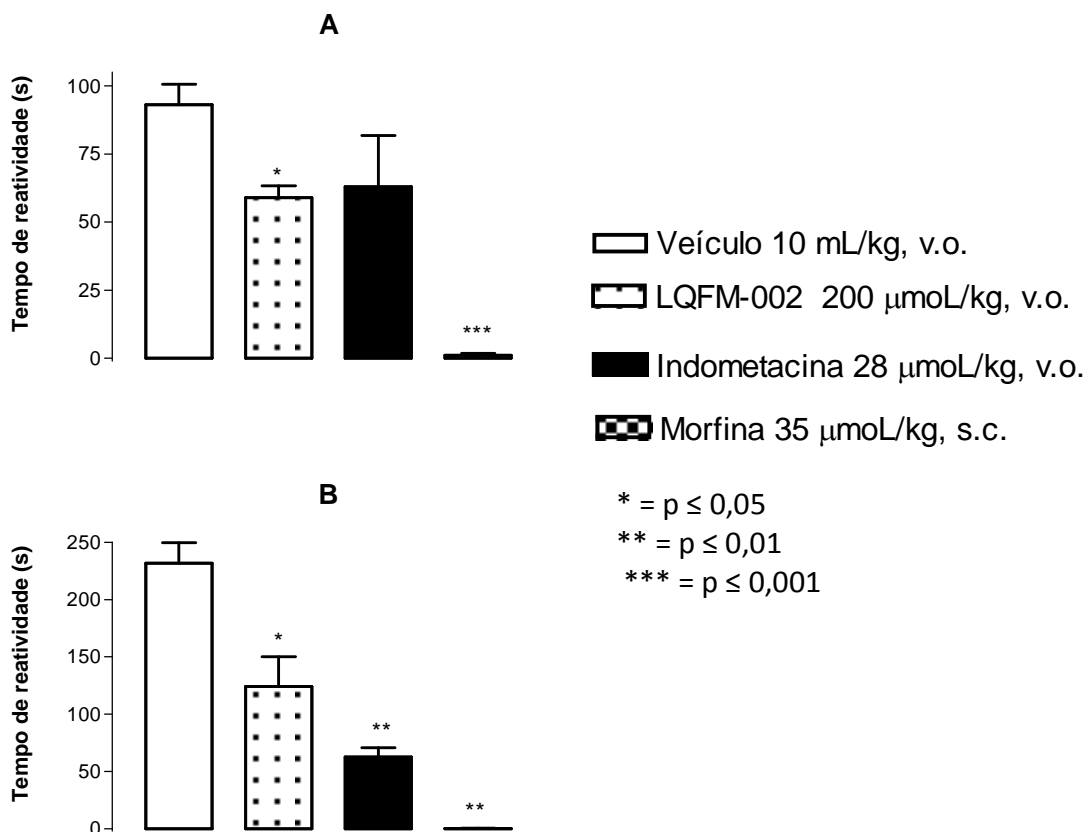


Figura 3: Efeito de LQFM-002 (200  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o.) no modelo de dor induzida por formalina, A) primeira fase (0-5 min) e B) segunda fase (15-30 min). As Colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  E.P.M., do tempo de reatividade à dor dos animais ( $n=7$ ) expresso em segundos. Indometacina (28  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o.) e morfina (35  $\mu\text{mol/kg}$ , s.c.) foram utilizadas como controles positivos.  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$  e \*\*\*  $p \leq 0,001$  indicam o nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle.

QFM-002 (200, 400 e 800  $\mu\text{mol/kg}$ ) aumentou o tempo de latência na placa quente aos 60 minutos e nas duas maiores doses aos 90 minutos do tratamento, quando comparado com o grupo controle tratado com veículo (10 mL/kg). Morfina (35  $\mu\text{mol/kg}$ ) aumentou este tempo a partir dos 30 min. do tratamento. O grupo controle apresentou as seguintes latências  $8,2 \pm 0,36$  s;  $8,77 \pm 0,66$  s;  $6,94 \pm 0,84$  s;  $3,92 \pm 0,37$  s;  $5,47 \pm 0,68$  s;  $7,27 \pm 0,77$  s e  $6,6 \pm 0,82$  s nos tempos -60, 0, 30, 60, 90, 120 e 150 min. respectivamente (figura 4).

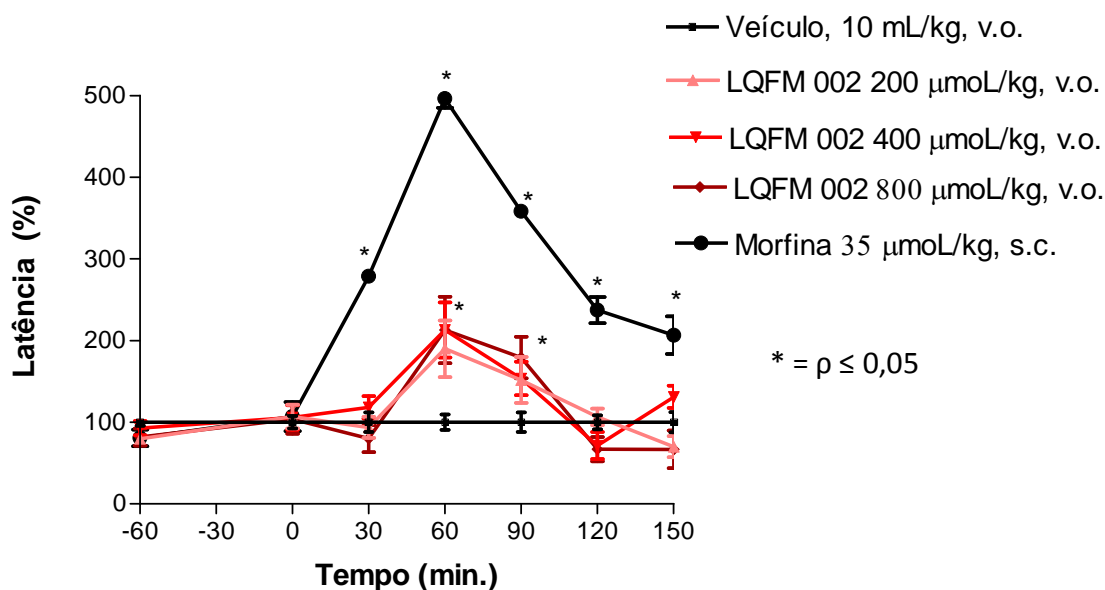


Figura 4: Efeito de LQFM-002 (200, 400 e 800  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o.) ou morfina (35  $\mu\text{mol/kg}$ , s.c.) no método de nocicepção induzida por calor (56 ° C). Os símbolos e barras verticais representam as médias  $\pm$  E.P.M., do tempo de reatividade a dor dos animais (n=7) expresso em porcentagem relativa ao grupo controle. Morfina (35  $\mu\text{mol/kg}$ , s.c.) foi utilizada como controle positivo.  $\rho \leq 0,05$ , \*\*  $\rho \leq 0,01$  e \*\*\*  $\rho \leq 0,001$  indicam o nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle.

### 3.5 Teste do Campo Aberto

O tratamento com LQFM-002 (800  $\mu\text{mol/kg}$ ) aumentou significativamente o número de quadrados invadidos, e de comportamento de levantar sobre patas posteriores bem como o de auto-limpeza e diminuiu o tempo parado no campo aberto, quando comparado ao grupo tratado com veículo. Diazepam (17,5  $\mu\text{mol/kg}$ ) alterou todos os parâmetros observados neste teste, exceto o comportamento de autolimpeza.

)2 não alterou o número de quedas no teste de barra giratória, enquanto que o diazepam (17,5  $\mu\text{mol/kg}$ ) aumentou significativamente o número de quedas neste teste (Tabela 1).

**Tabela 1: Efeito de LQFM-002 nos testes de campo aberto e rota-rod após o tratamento oral.**

Tratamento ( $\mu\text{mol/kg}$ )	Parâmetros do campo aberto				Rota-rod (quedas)
	Deambulação	Levantadas	Auto-limpeza	Parado (s)	
Veículo	96,0 $\pm$ 8,6	43,5 $\pm$ 3,4	0,8 $\pm$ 0,2	19,6 $\pm$ 4,1	0,6 $\pm$ 0,5
LQFM-002 800	149,3 $\pm$ 10,3**	62,5 $\pm$ 3,5**	4,6 $\pm$ 1,2**	9,5 $\pm$ 1,9*	0,4 $\pm$ 0,8
Dz 17,5	52,0 $\pm$ 12,8*	11,9 $\pm$ 3,6 *	0,22 $\pm$ 0,15	121,7 $\pm$ 27,2*	2,5 $\pm$ 0,7*

Resultados expressos como média  $\pm$  E.P.M. de dez camundongos, tratados com veículo 10 mL/kg, v.o. (controle), LQFM-002 (800  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o.) ou DZP (Diazepam - 17,5  $\mu\text{mol/kg}$ , v.o.).  
\* $p \leq 0,05$ , quando comparado ao grupo controle.

### 3.7 Sono Induzido por Pentobarbital Sódico

O tratamento com LQFM-002 (800  $\mu\text{mol/kg}$ ) não alterou significativamente a latência ao sono, porém foi capaz de aumentar significativamente o tempo de sono, quando comparado ao grupo controle. O grupo tratado com diazepam 17,5  $\mu\text{mol/kg}$  reduziu latência e aumentou a duração do sono (Tabela 2).

**LQFM-002 no tempo de sono em  
os ao teste de sono induzido por**

Tratamento	Parâmetro	
	Latência ao sono (seg.)	Tempo de sono (min.)
Veículo	180.5 ± 5.2	115.7 ± 9.8
LQFM-002 (800 µmol/kg)	164.1 ± 6.3	189.7 ± 16.2*
Dz (17,5 µmol/kg)	115.4 ± 5.2*	289.2 ± 17.6*

Resultados expressos como média ± E.P.M. de dez camundongos, tratados com veículo 10 mL/kg, v.o. (controle), (LQFM-002 800 µmol/kg) v.o. ou DZP (Diazepam - 17,5 µmol/kg, v.o.). \* $p \leq 0,05$ , quando comparado ao grupo controle.

1-002, um derivado pirazólico obtido por síntese, reduziu a atividade da enzima fosfolipase A<sub>2</sub> *in vitro* em 18% além do que os tratamentos com LQFM-002 nas doses de 100, 200 ou 400 µmol/kg foram capazes de reduzir a migração celular tanto nos modelos de peritonite como de pleurisia induzidos por carragenina em camundongos em até 68 % na maior dose testada. O tratamento com esta molécula também reduziu a concentração do azul de Evans em até 57 %, demonstrando que a quantidade de proteínas, como a albumina, foi reduzida no exsudato pleural. Estes resultados levaram o autor a sugerir que esta molécula tem uma ação anti-inflamatória e que o mecanismo desta ação envolve o bloqueio da PLA<sub>2</sub>.

Buscando melhor caracterizar o efeito anti-inflamatório desta molécula avaliamos o efeito de uma dose intermediária no modelo de nocicepção em camundongos sensível tanto a fármacos anti-inflamatórios como analgésicos.

Com o método de contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos, é possível demonstrar a atividade antinociceptiva de um determinado fármaco ou protótipo de fármaco pertencente a diferentes grupos farmacológicos, visto que esse modelo apresenta alta sensibilidade, porém baixa especificidade podendo mostrar resultado falso-positivo. Dentre estes grupos podemos citar depressores do sistema nervoso central, relaxantes musculares, anti-histamínicos, inibidores da monoaminaoxidase entre outros, fazendo desta forma necessária a utilização de outros métodos para comprovar a atividade analgésica (Koster *et al.*, 1959; Rocha *et al.*, 2007; Besson, 1999; Driessen, 2007).

O ácido acético é um estímulo que produz uma resposta nociceptiva cuja intensidade depende da interação de vários eventos, envolvendo neurotransmissores e neuromoduladores que determinam esta nocicepção. Assim este modelo é sensível a substâncias analgésicas de ação central e/ou periférica (Lapa, *et al.*, 2005).

Como esperado o tratamento com LQFM-002 na dose utilizada foi capaz de reduzir as contorções abdominais de camundongos corroborando com os resultados obtidos por Gomes, 2009, pois este efeito neste modelo é esperado para um fármaco anti-inflamatório. Este modelo, no entanto, não permite comprovar um efeito anti-

a atividade analgésica que envolva mecanismos (Collier *et al.*, 1968).

O fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) é uma potente citocina pró-inflamatória produzida em grandes quantidades por macrófagos, que contribui com o desenvolvimento da dor inflamatória por intermédio de outras citocinas e a partir da sensibilização de nociceptores, além de mediar a migração de neutrófilos para tecidos inflamados (Verri *et al.*, 2006). O doseamento de citocinas e enzimas relacionadas com o processo inflamatório tem se tornado uma maneira de avaliar a intensidade deste processo tornando-se uma boa ferramenta para elucidar o mecanismo de ação de determinados fármacos capazes de reduzir os sinais inflamatórios e também para avaliar a terapêutica em doenças inflamatórias crônicas (Rosengren *et al.*, 2003; Rocha *et al.*, 2006).

O tratamento com o derivado pirazólico LQFM-002 na dose testada (200  $\mu\text{mol/kg}$ ) inibiu em 25 % a concentração de TNF- $\alpha$ . Este resultado confirma a conclusão de Gomes (2009) de que LQFM-002 possui atividade anti-inflamatória, sugerindo que nesta ação, estão envolvidos mecanismos capazes de reduzir a concentração desta citocina que tem papel fundamental como mediador inflamatório (Barnes *et al.*, 1998; Ribeiro *et al.*, 2000; Francischetti *et al.*, 2010). A redução nos níveis de TNF- $\alpha$  pode ser responsável pela redução na migração celular vista por Gomes (2009) e em parte pelo efeito analgésico visto no modelo de contorções como proposto por Ribeiro *et al.* (2000), em que os autores mostram uma alteração nos níveis desta citocina neste modelo.

Os resultados anteriormente descritos para LQFM-002 juntamente com nossos dados confirmam a atividade anti-inflamatória desta molécula, no entanto não descartam uma ação analgésica independente deste efeito. Buscando verificar uma ação analgésica que independa de efeito anti-inflamatório utilizamos o modelo da dor induzida por formalina.

A injeção subcutânea de formalina, em ratos, determina o aparecimento de uma série de respostas motoras características, cuja quantificação permite que se avalie a intensidade da resposta nociceptiva (Dubuisson e Dennis, 1977). O modelo de dor induzido por formalina possui duas fases bem distintas. A primeira fase, também

gênica, ocorre nos cinco primeiros minutos após a injeção, conhecida como fase inflamatória, ocorre de 15 a 30 minutos após a injeção do agente irritante.

As duas fases de resposta no teste de formalina têm mediação química e mecanismos de modulação distintos, apresentando diferenças marcantes quanto à sua sensibilidade a drogas analgésicas. Assim é que, na primeira fase é atribuído um caráter neurogênico, sendo sensível a analgésicos opióides e a alguns agonistas das vias descendentes, enquanto a segunda fase é caracterizada como dor de origem inflamatória, sendo sensível à analgésicos e anti-inflamatórios não esteroidais. (Corrêa e Calixto, 1993; Guimarães *et al.*, 2010).

O derivado pirazólico LQFM-002 na dose testada foi capaz de reduzir o tempo de reatividade à dor tanto na primeira fase como na segunda fase do teste de formalina. Isto sugere que esta substância possui uma ação analgésica independente de seu efeito anti-inflamatório.

O envolvimento de mecanismos independentes da ação anti-inflamatória na atividade analgésica da molécula LQFM-002 foi avaliado através do teste da placa quente. Este teste é seletivo para detecção de substâncias analgésicas com efeito central (Ankier, 1974), podendo observar atividade analgésica mediada por mecanismos centrais, espinhais e supra-espinhais como vistos com fármacos opióides, sedativos e hipnóticos dentre outros (Woolfe e Macdonald, 1944; Silva *et al.*, 2005). No teste de placa quente os tratamentos com LQFM-002 nas doses utilizadas aumentaram a latência à resposta nociceptiva dos animais sugerindo o envolvimento de mecanismos antinociceptivos centrais no efeito analgésico desta molécula.

Para avaliar alterações comportamentais sugestivas de efeitos farmacológicos no sistema nervoso central, que pudessem corroborar o resultado obtido no modelo de formalina e placa quente, vistos com a molécula LQFM-002, que justificassem o efeito analgésico, realizamos os testes de campo aberto, barra giratória e sono induzido por barbitúrico. Com o uso da maior dose, também foi possível fazer uma avaliação de possíveis efeitos neurotóxicos que pudessem comprometer os resultados observados, visto que fármacos com atividade miorelaxante podem apresentar

O teste de campo aberto é um teste comportamental muito usado para avaliar a emocionalidade em roedores (Alboneti e Farabollini, 1984), permitindo caracterizar vários efeitos centrais, dentre eles o efeito de fármacos ansiolíticos, baseando-se no comportamento dos animais quando submetidos a um novo ambiente (Diana e Sagratella, 1994). Neste teste é possível verificar a atividade exploratória dos animais, através dos parâmetros de movimentação espontânea na periferia e no centro do campo; o número de comportamentos de auto-limpeza (“grooming”); de levantar (“rearing”), assim como o tempo em que permanecem parados e a sua defecação (como índice de emocionalidade), (Lapa *et al*, 2005).

O teste da barra giratória possibilita detectar interferências da possível perda de coordenação motora por sedação e/ou relaxamento muscular nos animais tratados com a droga em avaliação, evitando resultado falso-positivo de efeito tipo-ansiolítico (Duham e Miya, 1957; Mattei e Franca, 2006).

O tratamento dos animais com LQFM-002 causou um aumento na deambulação, no comportamento de auto-limpeza e de levantar e reduziu o tempo que os animais ficaram parado, não alterando a performance na barra giratória.

O teste do sono induzido por pentobarbital sódico é utilizado para verificar uma atividade estimulante ou depressora do sistema nervoso central, pois drogas estimulantes reduzem o tempo de sono enquanto drogas depressoras, em geral, aumentam o tempo do sono induzido por barbitúricos. Porém é importante ressaltar que este teste não é totalmente específico, pois drogas capazes de alterar o metabolismo dos barbitúricos podem resultar em falso-positivos (Carlini e Burgos, 1979; Mattei e Franca, 2006). Neste teste LQFM-002 não alterou a latência, porém, aumentou o tempo para recuperação do sono, sugerindo um efeito depressor central. Esta depressão pode ser considerada um indicativo de uma atividade sedativa, visto que o diazepam, um fármaco com atividade depressora central é capaz de aumentar o tempo de sono (Duarte, 2007; Galdino *et al.*, 2010).



**PDF Complete**  
*Your complimentary use period has ended.  
Thank you for using PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

utilizados não podemos descartar uma atividade  
ção de receptores opióides para a molécula LQFM-

002. Vale ressaltar que os efeitos observados nos testes de atividade central podem ser vistos também com fármacos hipnoanalgésicos, como por exemplo, a morfina. Estudos de comportamento em roedores mostram que a morfina é capaz de causar hiperatividade e sedação que podem ser revertidos com o tratamento de naloxona (Schunur e Barela, 2009).



**PDF**  
Complete

*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

de anti-inflamatória podendo neste efeito estar envolvido uma redução nos níveis de TNF- $\alpha$  além da redução na atividade da enzima PLA<sub>2</sub> descrita anteriormente.

- Esta molécula mostrou também um efeito analgésico independente da ação anti-inflamatória.
- Neste efeito parece estar envolvidos mecanismos centrais de controle da dor, como por exemplo, um efeito semelhante aos de fármacos hipnoanalgésicos.



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

*Conclusões Gerais*

apresenta sinais: calor, rubor, tumor, dor e perda de tunção. Estes sinais são o reflexo da resposta imunológica do organismo, sendo também uma forma do indivíduo perceber a patologia que está ocorrendo.

Os anti-inflamatórios disponíveis no mercado estão longe de serem os ideais, que causem menos efeitos colaterais e ainda consigam mitigar as dores e inflamações. Assim, a busca por novas moléculas anti-inflamatórias e com outros alvos farmacológicos se faz necessária, seja através de fontes naturais ou por síntese de novas moléculas.

LQFM-015 foi sintetizado em laboratório tendo como origem a molécula do 4-nerolidilcatecol. Estudos anteriores *in vitro*, confirmaram a sua capacidade de inibir a atividade da enzima PLA<sub>2</sub>.

Nosso trabalho avaliou, em modelos animais, a atividade anti-inflamatória e/ou analgésica desta molécula.

No modelo de dor induzido por ácido acético, LQFM-015 reduziu o número de contorções de maneira dose dependente. LQFM-015 possui uma ação antinociceptiva.

Para avaliar se a ação antinociceptiva vista no teste de contorções abdominais não se tratava de um resultado falso positivo, foram realizados os testes: de barra giratória, de campo aberto e de sono barbitúrico. Nossos resultados descartaram atividade miorelaxante, bem como uma ação depressora ou excitatória no SNC.

No modelo de dor induzido por formalina, LQFM-015 reduziu de forma dose dependente somente a segunda fase do teste (fase inflamatória), ficando evidente a atividade inflamatória desta molécula. Esta atividade foi confirmada nos modelos de inflamação aguda induzidos por carragenina, edema de pata e pleurisia.

LQFM-015 também foi capaz de reduzir a atividade da enzima mieloperoxidase, enzima que é liberada nos sítios de inflamação por neutrófilos ativados.

Nossos resultados mostram que LQFM-015 é dotado de uma ação anti-inflamatória na qual podem estar envolvidas ações inibitórias nas atividades das enzimas mieloperoxidase e PLA<sub>2</sub> como mostrado anteriormente.

razólico que em estudos anteriores, com modelos ação anti-inflamatória e ação inibitória sobre a atividade da enzima PLA<sub>2</sub> *in vitro*.

LQFM-002, na dose utilizada, foi capaz de reduzir as contorções abdominais induzidas por ácido acético.

Para caracterizar o mecanismo de ação anti-inflamatório de LQFM-002, foi avaliado a sua ação nos níveis de TNF- $\alpha$  presente em exsudato pleural. LQFM-002 reduziu significativamente a concentração de TNF- $\alpha$ .

No modelo de dor induzido por formalina, LQFM-002 foi capaz de reduzir significativamente as duas fases (dor neurogênica e dor inflamatória).

No modelo de placa quente, LQFM-002 foi capaz de aumentar à latência a dor.

O tratamento com LQFM-002 causou uma ação excitatória nos animais, observada no teste do campo aberto e uma ação depressora, vista no teste do sono barbitúrico, efeitos comuns aos fármacos ansiolíticos ou hipnoanalgésicos.

LQFM-002 possui uma ação analgésica central e no mecanismo da ação anti-inflamatória desta molécula está envolvida uma redução nos níveis de TNF- $\alpha$ .



*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

# *REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ABBOTT, F. V.; HONG, Y. e BLIER, P. Activation of 5-HT<sub>2A</sub> receptors potentiates pain produced by inflammatory mediators. *Neuropharmacology*. v. 35. n. 1. p. 99-110, 1996.

ABE, A. e SHAYMAN, J. A. Purification and characterization of 1-Oacylceramide synthase, a novel phospholipase A<sub>2</sub> with transacylase activity. *J. Biol. Chem.* v. 273, p. 8467 – 8474, 1998.

ACKERMANN, E.J.; KEMPNER, E. S. e DENNIS, E. A. Ca<sup>2+</sup>-independent cytosolic phospholipase A2 from macrofage-like P388D<sub>1</sub> Cells. Isolation and characterization. *J Biol Chem.* v. 269, n. 12, p. 9227 -2- 33, 1994.

AKENDENGUÉ, B.; LOUIS, A.M. Medicinal plants used by the Masango people in Gabon. *J Ethnopharmacol.* v. 41 n. 3, p. 193-200, 1994.

ALEH, T. S.; CALIXTO, J. B. e MEDEIROS, Y. S. Effects of anti-inflammatory drugs upon nitrate and myeloperoxidase levels in the mouse pleurisy induced by carrageenan. *Peptides.* v. 20, n. 8, p. 949-56, 1999.

ALHAIDER, A. A.; LEI, S. Z. E WILCOX, G.L.; Spinal 5-HT<sub>3</sub> receptor-mediated antinociception: possible release of GABA. *Journal of Neuroscience.* v. 11. p. 1881-1888, 1991.

ALMEIDA, A. P.; BAYER, B.M.; HORAKOVA, Z. e BEAVEN, M. A.; Influence of indomethacin and other anti-inflammatory drugs on mobilization and production of neutrophils: studies with carrageenan-induced inflammation in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* v. 214, p. 74-79, 1980.

1. E. SORRENTINO, L.. Leucocyte migration and carrageenin pleurisy. *Agents Actions* 5: 250-255, 1975.

ANKIER S. I. New hot plate test to quantify antinociceptive and narcotic-antagonist activities. *Eur J Pharmacol.* v. 27, p. 1-4 1974.

ARAUJO, L. F.; SOEIRO, A. M.; FERNANDES, J. L.; SERRANO JR, C. V. Eventos Cardiovasculares: Um Efeito de Classe dos Inibidores de COX-2; *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* v. 85, n. 3, 2005.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Anim Behav.* v. 21, p. 205 – 235, 1973.

BAYER, H.; MULLER, T.; MYRTEK, D.; SORICHTER, S.; ZIEGENHAGEN, M.; NORGAEUER, J.; ZISSEL, G. E IDZKO, M. Serotonergic Receptors on Human Airway Epithelial Cells. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology.* v. 36, p. 85–93, 2007.

BHATIA M.; SALUJA, A.; HOFBAUER, B.; FROSSARD, J.; LEE, H. S.; CASTAGLIUOLO, I.; WANG, C.; GERARD, N.; POTHOUKAKIS, C. e STEER, M. L. Role of substance P and the neurokinin 1 receptor in acute pancreatitis and pancreatitis-associated lung injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 4760–4765. In Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome.

BHATIA, M.; BRADY, M.; SHOKUHI, S.; CHRISTMAS, S.; NEOPTOLEMOS, J. P. E SLAVIN, J. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *The Journal of Pathology.* v. 190, n. 2, p. 117–125, 2000.

BORSATO, M.L.C.; GRAEL, C.F.F.; SOUZA, G.E.P. e LOPES, N.P. Analgesic activity of the lignans from *Lychnophora ericoides*. *Phytochemistry*, v.55, p. 809-813, 2000.

F. Interpreting the clinical significance of the  
COX-1 and cyclooxygenase-2. *Rheumatology*. v. 38,  
p. 779-788, 1999.

BUT, P. G.; MURAV'EV, R. A.; FOMINA, V. A.; ROGOVIN, V. V. Antimicrobial activity of  
myeloperoxidase from neutrophilic peroxisome. *Biol Bull*, v. 29, p. 266-270, 2002.

CAMPOS, C.; GREGORIO, R.; GARCÍA-NIETO, R.; GAGO, F.; ORTIZ, P. E ALEMANY, S.  
Regulation of cyclooxygenase activity by metamizol. *European Journal of  
Pharmacology*. v. 13 p. 339-347,1999.

CAMPOS, M. M. E CALIXTO, J. B. Involvement of B1 and B2 receptors in bradykinin-  
induced rat paw oedema. *British Journal of Pharmacology*. v. 114, p. 1005-1013, 1995.

CARLINI, E. A. e BURGOS, V. Screening farmacológico de ansiolíticos: Metodologia  
laboratorial e comparação entre diazepam e clorobenzepam. *Rev. Ass. Bra. Psiquiatria*.  
v. 1, p. 25–31, 1979.

CARLSSON, K.; HELMREICH, J. E JURNA, I. Activation of inhibition from the  
periaqueductal grey matter mediates central analgesic effect of metamizol (dipyrone).  
*Pain*. v. 27, n. 3, p. 373-390, 1986.

CARR, D. B. e GOUDAS, L. C. Acute pain. *The Lancet*. v. 353, n. 9169, p. 2051-2058,  
1999.

CARVALHO, W. A.; CARVALHO, R. D. S. e RIOS-SANTOS, F. Analgésicos Inibidores  
Específicos da Ciclooxygenase-2: Avanços Terapêuticos. *Rev. Bras. Anestesiol*. v. 54. n. 3  
p. 448 – 464, 2004.

CHANDRASEKHARAN, N. V.; DAI, H.; ROOS, K. L.; EVANSON, N. K.; TOMSIK, J.; ELTON, T.  
S.; E SIMMONS, D. L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen

COLEMAN, J.W. Nitric oxide in immunity and inflammation. *International Immunopharmacology*. v. 1. p. 1397-1406, 2001.

COLLIER, H. O. J.; DINNEEN, L.C.; JOHNSON, C. A.; SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesics drugs in the mouse. *Br. J. Pharmacol. Chemoter.*, v.32, p.295-310, 1968.

COMPASSO, F.; DUNN, C. J.; YAMAMOTO, S.; WILLOUGBBY, D. A. e GIROUD, J. P.. Further studies on carrageenan-induced pleurisy in rats. *J. Pathol.* v. 116, p. 117-124, 1975.

CORRÊA, C. R. e CALIXTO, J. B. Evidence for participation of B1 and B2 kinin receptors in formalin-induced nociceptive response in mouse. *Br. J. Pharmacol.* v. 110, p. 193-198, 1993.

CRISAFULLI, C.; MAZZON, E.; MUIA, C.; BELLA, P.; ESPOSITO, E.; MILE, R. e CUZZOCREA, S. Effects of combination of melatonin and dexamethasone on acute lung injury in a mice model of carrageenan-induced pleurisy. *J Pineal Res.* v. 41. p. 228–237. 2006.

CUTRER, F. M.; YU, X-J.; AYATA, G.; MOSKOWITZ, M. A. e WAEBER, C,. Effects of PNU 109291, a selective 5-HT<sub>1D</sub> receptor agonist, on electrically induced dural plasma extravasation and capsaicin-evoked *c-fos* immunoreactivity within trigeminal nucleus caudalis. *Neuropharmacology*. v. 38, p. 1043–1053, 1999.

DAMIANI, D.; KUPERMAN, H.; DICHTCHEKENIAN, V.; MANNA, T. D. e SETIAN, N. Corticoterapia e suas repercussões: a relação custo–benefício. *Pediatria*. v. 1. p. 71-82, 2001.

s, regulation, and function of phospholipase A<sub>2</sub>. *J. Pharm. Pharmacol.* v. 46, p. 3060, 1994.

DENNIS, E. A. Phospholipases. In *The Enzymes*, P Boyer (ed.). (3rd edn), v. 16 Academic Press: New York ; p. 307–353. 1983.

DERAEDT, R.; JOUQUEY, S.; DELEVALLEE, F. e FLAHAUT, M. Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. *Eur.J. Pharmacol.*, v.61, p. 17-24, 1980.

DESMARCHELIER, C.; SLOWING, K. e CICCIA, G. Anti-inflammatory activity of *Pothomorphe peltata* leaf methanol extract. *Fitoterapia*. v. 71, n. 5, p. 556-558, 2000.

DONNELLY, M. T. e . HAWKEY, C. J. Review article: COX-II inhibitors—a new generation of safer NSAIDs? *Alimentary Pharmacology e Therapeutics*. v. 11 n. 2. p. 227–235, 1997.

DUARTE, I. D.; NAKAMURA, M.; FERREIRA, S. H. Participation of the sympathetic system in acetic acid-induced writhing in mice. *Braz. J. Med. Biol. Res.* v. 21, n. 2 p. 341-3, 1988.

DUBOIS, R; ABRAMSON, S. e CROFFORD, L. Cyclooxygenase in biology and disease. *Faseb J.* v. 12, p. 1063-1088, 1998.

DUHAM N. W, MIYA T. S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *J. Am. Pharm. Assoc.* v. 46, p. 208–209, 1957.

EDWARDS, J. E.; MESEGUER, F.; FAURA, C. C. MOORE, R. A. e MCQUAY, H. J. Single-dose dipyron for acute postoperative pain. *Cochrane Database Syst Rev.* v. 3:CD003227. 2001.

JARA, C.; MOORE, R.A.; MCQUAY, H. J. Single dose  
*Cochrane Database Syst Rev.* v. 4:CD003867, 2002.

FARSAM, H.; AMANLOU, M.; DEHPOUR, A. R. E JAHANIANI, F. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Biebersteinia multifida* DC. root extract. *J Ethnopharmacol.* v. 71. p. 443-447, 2000.

FEGHALI, C. A. e WRIGHT, T. M. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Frontiers in Bioscience.* v. 2, p. 12-26, 1997.

FERREIRA, S. H.; NAKAMURA, M., de Abreu Castro, M. S. The hyperalgesic effects of prostacyclin and prostaglandin E2. *Prostaglandins.* v. 16, p. 31–37, 1978.

FORTE–DIAS, C. L.; JANNOTTI, M. L. D.; FRANCO, F. J. L.; MAGALHÃES, A.; DINIZ, C. R. Studies on the specificity of CNF, a phospholipase A<sub>2</sub> inhibitor isolated from the blood plasma of the south American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*). I Interaction with PLA<sub>2</sub> from *Lachesis muta muta* snake venom. *Toxicon*, v. 37, p. 1747-59, 1999.

FRANCISCHETTI, I.; MORENO J. B.; SCHOLZ, M. e YOSHIDA, W. B. Os leucócitos e a resposta inflamatória na lesão de isquemia-reperfusão. *Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.*; v. 25. n. 4. p. 575-584, 2010.

FRÖDE, T. S.; SOUZA, G. E. P. e CALIXTO, J. B. The affects Of Il-6 and Il-10 and their specific antibodies in the acute inflammatory responses induced by carrageenan in the mouse model of pleurisy. *Cytokine.* v. 17, n. 3, p. 149-156, 2002.

FRÖDE, T. S.; SOUZA, G. E. P. e CALIXTO, J. B. The modulatory role played by TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in the inflammatory responses induced by carrageenan in the mouse model of pleurisy. *Cytokine.* v. 13, n. 3, p. 162-168, 2001.

XTO, J. B. The modulatory role played by tnf- $\alpha$  and  $\text{IL-1}$  induced by carrageenan in the mouse model of pleurisy. *Cytokine*. v. 13. n. 3. p. 162-168, 2001.

GAMBARO, G. e PERAZELLA, M. A. Adverse renal effects of anti-inflammatory agents: evaluation of selective and nonselective cyclooxygenase inhibitors. *Journal of Internal Medicine*. v. 253. p. 643-652, 2003.

GARCIA, L. J.; HAMAMURA, L.; LEITE, M. P.; SILVA, R. Pharmacological analysis of acute inflammatory process induced in the rat's paw by local injection of carrageenan and by heating. *Br. J. Pharmacol.* v. 48, p. 88-96, 1973.

GARCIA, S.; CANIONERO, M. E LOPES, G. Dipyrrone-induced granulocytopenia: a case for awareness. *Pharmacotherapy*. V. 26, n.3, p. 440-2, 2006.

GAUT, J. P.; YEH, G. C.; TRAN, H. D.; BYUN, J.; HENDERSON, J. P.; RICHTER, G. M.; BRENNAN, M. L.; LUSIS, A. J.; BELAAOUAJ, A.; HOTCHKISS, R. S.; HEINECKE, J. W. Neutrophils employ the myeloperoxidase system to generate antimicrobial brominating and chlorinating oxidants during sepsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 98, p. 11961-11966, 2001.

GIORDANO, J. e ROGERS, L. V. Peripherally administered serotonin 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists reduce inflammatory pain in rats. *European Journal of Pharmacology*. v. 170, p. 83-86, 1989.

GOMES, M. N. Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos candidatos a protótipos de fármacos anti-inflamatórios. [manuscrito]. Dissertação (mestrado) – Universidade federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, 2009.

GUIMARÃES, H. A.; NASCIMENTO, M. V. M.; TAVARES, A.; GALDINO, P. M.; PAULA, J. R., COSTA, E. A. Effects of ethanolic extract of leaves of *Lafoensia pacari* A. St.-Hil.,

of inflammation models. *Revista Brasileira de Farmacologia*, v. 3, 2010.

GUTIÉRREZ, J. M. e LOMONTE, B. Phospholipase A<sub>2</sub> myotoxinas from *Bothrops* snake venoms. *Toxicon*. v. 33, n. 11, p. 1405 – 1424, 1995.

GUTIÉRREZ, J. M.; AVILA, C.; ROJAS, E.; CERDAS, L. An alternative in vitro method for testing the potency of the polyvalent antivenom produced in Costa Rica. *Toxicon*, v. 26, n. 4, p. 411 – 3, 1988.

HARBERMANN, E. E HARDT, K. L. A Sensitive and specific plate test for the quantitation of phospholipases. *Analytical Biochemistry*, v. 50, p. 163-173, 1972.

HATA, A. N. e BREYER, R. M. Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: multiple roles in inflammation and immune modulation. *Pharmacol Ther.*; v. 103, p. 147–166, 2004.

HERNÁNDEZ, N. e VANEGAS, H. Antinociception induced by PAG-microinjected dipyrone (metamizol) in rats: involvement of spinal endogenous opioids. *Brain Research*. v. 896, n. 1-2, p. 175-178, 2001.

HIPPISLEY-COX, J. e COUPLAND, C. Risk of myocardial infarction in patients taking cyclo-oxygenase-2 inhibitors or conventional non-steroidal anti-inflammatory drugs: population based nested case-control analysis. *BMJ*. v. 330, p. 11, 2005.

HOYER, D.; HANNON, J. P.; MARTIN, G. R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.* v. 71, p. 533–554, 2002.

HSIEH, R.J, KINSELLA, J.E. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. *Adv. Food Nutr. Res.*, v. 33, p. 233-341, 1989.

in test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, v. 30, p. 103-114, 1987.

HUNSKAAR, S.; FASMER, O. B.; HOLE, K. Formalin test in mice, auseful technique for evaluation mild analgesia. *J. Neurosci. Meth.*, v. 14, p. 69-76, 1985.

IASP – Classification of chronic pain. *Pain.*;Suppl 3:S1-S226, 1986.

IBANEZ,L.; VIDAL, X. E BALLARIN, E. Joan-Ramon Laporte. Agranulocytosis associated with dipyron (metamizol). *Eur J Clin Pharmacol.* v. 60, p. 821–829. 2005.

INSEL, P. A. Substâncias anlgésicas-antipiréticas e anti-inflamatórias; e Drogas empregadas no tratamento da artrite reumatóide e da gota. In: As bases farmacológicas da terapêutica. Goodman e Gilman. 8<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. p. 431-432, 1991.

KALAUOKALANI, D.; CHERKIN, D. C.; SHERMAN, K. J.; KOESELL, T. D.; DEYO, R. A. Randomized Trial Lessons from a Trial of Acupuncture and Massage for Low Back Pain: Patient Expectations and Treatment Effects. *Spine.* 2001 – v. 26. n. 13. p. 1418-1424.

KHASAR, S. G.; MCCARTER, G. e LEVINE, J. D. Epinephrine produces a  $\beta$ -adrenergic receptor-mediated mechanical hyperalgesia and in vitro sensitization of rat nociceptors. *J. Neurophysiol.* v. 81, 1104–1112, 1999.

KINI, R. M. Exciment ahead: structure, function and mechanism of snake phospholipase PLA<sub>2</sub> enzymes. *Toxicon*, v. 42, n. 8, p. 827 – 840, 2003.

KOSTER, R.; ANDERSONS, M.; DEBBER, E. J. Acetic acid analgesic screening. *Federation Proceedings*, v. 89, p. 418 - 420, 1959.

LAINE, L. Approaches to nonsteroidal anti-inflammatory drug use in the high-risk patient. *Gastroenterology*; v. 120, p. 594-606, 2001.

LAINE, L.; SMITH, R.; MIN, K.; CHEN, C. e DUBOIS, R. W. Systematic review: the lower gastrointestinal adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Alimentary Pharmacology e Therapeutics*. V. 24, n. 5, p. 751–767, 2006

LANCEL, M. Role of GABA<sub>A</sub> receptors in the regulation of sleep: initial sleep responses to peripherally administered modulators and agonists. *Sleep*. v. 22, p. 33–42, 1999.

LANZA, F. Clinical manifestation of myeloperoxidase deficiency. *J Mol Med*, v. 6, p.676-681, 1998.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; CASTRO, M. S. A. e LIMA, T. C. M. *Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais*. Fortaleza: SBPC, 2005. 75p.

LE BARS, D. e WILLER, J. C. Physiologie de la douleur. *EMC-Anesthesie Reanimation.*; v. 1, p. 227-66, 2004.

LIEW, F. Y., MCLNNES, I. B., The role of innate mediators in inflammatory process. *Mol. Immunol.* v. 38, p. 887–890, 2002.

LOESER e MELZACK, R. Pan an overview. *Lancet*, v.353, p. 1607-1609, 1999.

MALONE, M. H. Pharmacological approaches to natural product screening and evaluation. In: Wagner H, Wolf P (eds) *New natural products and plant drugs with*

MANCUSO, D. J.; JENKINS, C. M. e GROSS, R. W. The Genomic Organization, Complete mRNA Sequence, Cloning, and Expression of a Novel Human Intracellular Membrane-associated Calcium-independent Phospholipase A<sub>2</sub>. *Journal of Biological Chemistry*. v. 275, p. 9937-9945, 2000.

MARTINS, F. I. Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos candidatos a protótipos de fármacos anti-inflamatórios desenhados a partir do nerolidilcatecol. [manuscrito]. Dissertação (mestrado) – Universidade federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, 2009.

MATTEI, R., FRANCA, C. I. F. Testes gerais para confirmar a ação Central. Modelos animais em psicofarmacologia. In: ALMEIDA, R. N. Psicofarmacologia: Fundamentos Práticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. P. 138-42

MEADE, E. A.; SMITH, W. L. e DEWITTS, D. L. Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (Cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other non-steroidal antiinflammatory drugs. *The journal of biological chemistry*. v. 268, n. 9, p. 6610-6614, 1993.

MILLAN, M.J. The induction of pain: an integrative review. *Prog. Neurobiol.* v. 57, p. 1 – 164. 2003.

MIRANDA, H. F.; LEMUS, I. E PINARDI, G. Effect of the inhibition of serotonin biosynthesis on the antinociception induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Brain Research Bulletin*. v. 30. P. 417-425, 1993.

CHANI, A. Omega fatty acids and resolution of  
tale Journal of J Indian Soc Periodontol. v. 14, n. 1,  
p. 3–7, 2010.

MUNRO, G. Dopamine D1 and receptor agonism enhances antinociception mediated by the serotonin and noradrenaline reuptake inhibitor duloxetine in the rat formalin test. *Eur. J. Pharmacology* 575:66-74, 2007.

MURAKAMI, M.; MASUDA, S.; UEDA-SEMMYO, K.; YODA, E. KUWATA, H. TAKANEZAWA, Y.; AOKI, J.; ARAI, H.; SUMIMOTO, H.; ISHIKAWA, Y.; ISHII, T.; NAKATANI, Y. e KUDO, I. Group VIB  $Ca^{2+}$ -independent phospholipase  $A_2$  gamma promotes cellular membrane hydrolysis and prostaglandin production in a manner distinct from other intracellular phospholipase  $A_2$ . *J Biol Chem*. v. 280, p. 14028 – 14041, 2005.

MURAKAMI, M.; SHIMBARA, S.; KAMBE, T.; KUWATA, H.; WINSTEAD, M. V.; TISCHFIELD, J. A. e KUDO, I. The functions of five distinct mammalian phospholipase  $A_2$ s in regulating arachidonic acid release. *J. Biol Chem*. v. 273. p. 14411 – 14423, 1998.

MURATA, T.; USHIKUBI, F.; MATSUOKA, T.; HIRATA, M.; YAMASAKI, A.; SUGIMOTO, Y.; ICHIKAWA, A.; AZE, Y.; TANAKA, T.; YOSHIDA, N.; UENO, A.; OH-ISHI, S. E NARUMIYA, S. Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor. *Nature*. v. 388, p. 678-682, 1997.

NEVE, J.; PARIJ, N.; MOGUILEVSKY, N. Inhibition of the myeloperoxidase chlorinating activity by non-steroidal anti-inflammatory drugs investigated with a human recombinant enzyme. *Eur J Pharmacol*, v. 417, p. 37-43, 2001.

NISHIMURA, M.; NATSUKI, S.; KANEYAMA, K.; SUZUKI, T. E MIYAMARU, M. ISHIKAWA. Relationships between pain-related mediators and both synovitis and joint pain in patients with internal derangements and osteoarthritis of the temporomandibular joint. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*. v. 94, n. 3, 2002.

Z, M. G. Acute pancreatitis induces intrapancreatic tumor necrosis factor gene expression. *Arch Surg.* v. 130: p. 966–970, 1995.

NÚÑEZ, V.; CASTRO, V.; MURILLO, R.; PONCE-SOTO, L. A.; MERFORT, I.; LOMONTE, B. Inhibitory effects of *Piper umbellatum* and *Piper peltatum* extracts towards myotoxic phospholipases A<sub>2</sub> from *Bothrops* snake venoms: Isolation of 4-nerolidylcatechol as active principle. *Phytochemistry.* v. 66, p. 1017-1025, 2005.

OKUSAWA, S.; GELFAND, J.A.; IKEJIMA, T.; CONNOLLY, R. J. e DINARELLO, C.A. Interleukin 1 induces a shock-like state in rabbits. Synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition. *J. Clin. Invest.* v. 81 n. 4, p. 1162-72, 1988.

OLIVEIRA, S. M. Estudo do potencial analgésico e antiinflamatório do 3-(4-fluorfenil)-5-trifluormetil-1h-1-tosilpirazol em modelos de dor em camundongos. Dissertação apresentada no curso de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Bioquímica Toxicológica. Santa Maria, RS, Brasil, 2009.

PAIRET, M. E ENGELHARDT, G. Distinct isoforms (COX-1 and COX-2) of cyclooxygenase: possible physiological and therapeutic implications. *Fundamental & Clinical Pharmacology.* v.10, n.1, p. 1–15, 1996.

PERAZZO, F. F.; SOUZA, G. H. B.; LOPES, W.; CARDOSO, L. G. V. , CARVALHO, J. C. T. , DHAMMIKA NANAYAKKARA, N. P. e BASTOS, J. K. Anti-inflammatory and analgesic properties of water–ethanolic extract from *Pothomorphe umbellata* (Piperaceae) aerial parts. *J. Ethnopharmacology.* v. 99, p. 215-220, 2005.

PERAZZO, F. F.; SOUZA, G. H.; LOPES, W.; CARDOSO, L. G.; CARVALHO, J. C. e NANAYAKKARA, N. P. Anti-inflammatory and analgesic properties of water-ethanolic

ta (Piperaceae) aerial parts. *J Ethnopharmacol.* v.

PIERRE,RADI, Z. A. Pathophysiology of Cyclooxygenase Inhibition in Animal Models; *Toxicologic Pathology.*v. 37. p. 34-46, 2009.

RAMACCIOTTI, A. C.; ATALLAH, A. N. E SOARES, B. G. O. Diproona nas cefaléias primárias agudas: Revisão Sistemática. *Ver. Neurocienc.*; v. 15, n. 1, p. 37-43, 2007.

RIBEIRO, R. A., VALE, M. L. THOMAZZI, S. M., PASCHOALATO, A. B., POOLE, S. FERREIRA, S. H., CUNHA, F. Q. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur. J. Pharmacology* 387:111-118.

RIBEIRO, R. A.; VALE, M. L., Thomazzi, S. M.; PASCHOALATO, A. B. P.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H. e CUNHA, F. Q. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *European Journal of Pharmacology.* v. 387, n. 1, p. 111-118, 2000.

ROCHA, A. C.C.; FERNANDES, E. S.; QUINTÃO, N. L. M.; CAMPOS, M. M. E CALIXTO, J. B. Relevance of tumour necrosis factor- $\alpha$  for the inflammatory and nociceptive responses evoked by carrageenan in the mouse paw. *British Journal of Pharmacology.* v. 148, p. 688–695, 2006.

ROBERTS, J.L e MORROW, D. J.; Analgésicos e antipiréticos, agentes antiinflamatórios e fármacos utilizados no tratamento da gota *in: As bases farmacológicas da terapêutica.* Goodman e Gilman. 10 ed., 2005.

ROSEN, H. e MICHEL, B. Redundant contribution of myeloperoxidase dependent systems to neutrophil-mediated killing of *Escherichia coli*. *Infec Immun.* v. 65, p. 4173–8, 1997.

e BOYLE, D. L. Measurement of Inflammatory Biomarkers in Synovial Tissue Extracts by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology*, V. 10, n. 6, p. 1002–1010, 2003.

S. C.; SCHMIDT, R.; BRENNEIS, C.; MICHAELIS, M.; GEISSLINGER, G. e SCHOLICH, K. Inhibition of Cyclooxygenases by Dipyrrone. *British Journal of Pharmacology*. v. 151, n. 4, p. 494–503, 2007.

SALEH, T. S. CALIXTO J. B., MEDEIROS, Y.S. Effects of anti-inflammatory drugs upon nitrate and myeloperoxidase levels in the mouse pleurisy induced by carrageenan. *Peptides*. v. 20, n. 8, p. 949-56, 1999.

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

SARZI-PUTTINI, P.; ATZENI, F.; LANATA, L.; BAGNASCO, M.; COLOMBO, M.; FISCHER, F. D'IMPORZANO, M. Pain and ketoprofen: what is its role in clinical practice? *Reumatismo*.; v. 62, n.3, p.172-188, 2010.

SAUZEM, P. D.; SANT'ANNA, GDA S., MACHADO, P.; DUARTE, M. M.; FERREIRA, J.; MELLO, C. F.; BECK, P.; BONACORSO, H. G.; ZANATTA, N.; MARTINS, M. A. E RUBIN, M. A. Effect of 5-trifluoromethyl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles on chronic inflammatory pain model in rats. *Eur J Pharmacol*. p. 15, n. 616(1-3) p. 91-100, 2009.

SCHALOSKE, R. H. e DENNIS, E. A. The phospholipase A2 superfamily and its group numbering system. *Biochim. Biophys. Acta*. v. 1761, p. 1246 – 59, 2006.

SEDGWICK AD. Initiation of inflammatory response and its prevention. In: Bonta IL, Bray MA, editors. *Handbook of inflammation*. New York: Elsevier, pp. 253–61, 1995.

WANG, L.; MILLAN, M. J. Antinociceptive profiles of novel class of purkinin-2 receptors antagonists, comparison to other classes of antinociceptive agent, *Pain*, v. 6, p. 325-343, 1995.

SERHAN, C. N.; Systems Approach with Inflammatory Exudates Uncovers Novel Anti-Inflammatory and Pro-Resolving Mediators. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*; v. 79, n. 3-5, p. 157–163, 2008.

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

SHIOMI, K.; KAZAMA, A.; SHIMAKURA, K.; NAGASHIMA, Y. Purification and properties of phospholipases A2 from the crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) venom. *Toxicon*, v. 36, n. 4, p. 589-599, 1998.

SILVA, W. D. e MOTA I. Bier Imunologia básica e aplicada. Quinta edição, 2003. Editora Guanabara. Rio de Janeiro – RJ.

SIMON, L.S. Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. *American Journal of Medicine*, v.106, n.5B, p.37-42, 1999.

SIX, D. A. e DENNIS, E. A. The expanding superfamily of phospholipase A(2) enzymes: classification and characterization. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1488, p. 1-19, 2000.

SMITH, T.; MCCRAKEN, J.; SHIN, Y.K. e DEWITT, D. Arachidonic acid and nonsteroidal anti-inflammatory drugs induced conformational changes in the human prostaglandin endoperoxide H2 synthase-2 (cyclooxygenase-2). *J Biol Chem*. v. 275, n. 51, p. 40407-15, 2000.

SMITH, W. L.; DE WITT, D. L.; GARAVITO R. M. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu. Rev. Biochem*. v. 69, p. 145– 182. 2000.

HIMOTO, S. Serotonin activates human monocytes and prevents apoptosis. *J. Invest. Dermatol.* v. 127, p. 1947–1955, 2007.

SOKAL, R. R. e ROHLF, F. J. *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*, 2nd . WH Freeman & Co: New York, 859, 1981.

SOUZA, J. B. Poderia a Atividade Física Induzir Analgesia em Pacientes com Dor Crônica? *Rev. Bras. Med. Esporte.* v. 15, n. 2, 2009.

SUFKA, K. J.; SCHOMBURG, F. M. E GIORDANO, J. Receptor mediation of 5-HT-induced inflammation and nociception in rats. TJOLSEN, A. e HOLE, K. Animals models of analgesia. In: the pharmacology of pain (ed. Dickenson, A. e Bensson, J.M.). p. 1-20. Berlin: Springer, 1997.

TOMLINSON, A.; APPLETON, I.; MOORE, A. R.; GILROY, D. W.; WILLIS, D.; MITCHELL, J. A. E WILLOUGH BR D. A. Cyclo-oxygenase and nitric oxide synthase isoforms in rat carrageenin-induced pleurisy. *J Pharmacol.* v. 113, n. 3, p. 693–698, 1994.

TRACEY, K. J. e CERAMI, A. Tumour necrosis factor, other cytokines and disease. *Annu. Rev. Cell. Biol.* v. 9. P. 317–343, 1993.

VALLERAND, A. H.; FOULADBAKHSH, J. M. e TEMPLIN, T. The Use of Complementary/Alternative Medicine Therapies for the Self-Treatment of Pain Among Residents of Urban, Suburban, and Rural Communities. *American Journal of Public Health.* v. 93. n. 6. p. 923-925. 2003.

VANE, J. R. e BOTTING, R. M. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflammatio Research.* V.47, sup. 2, p.78-87, 1998.

in synthesis as a mechanism of action for aspirin-  
7, 1971.

VERRI JR., W. A.; CUNHA, T. M.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. Cytokine inhibitors and pain control. *Rev. Bras. Reumatol.* v. 47, n.5, 2007.

VILLAR, A.; GOSOOC, M. A. e ALCARAZ, M. J. Some aspects of the inhibitory activity of hypolactin-8-glucoside in acute inflammation. *J. Pharm. Pharmacol.* v. 39, p. 502–507, 1987.

VINEGAR, R.; TRUAX, J. F. e SELPH, J. L. Some quantitative temporal characteristics of carrageenin-Induce pleurisy in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med*, v. 143, n. 3, p. 711-4 1973.

VINEGAR, R.; TRUAX, J. F.; SELPH, J. L.; JOHNSTON, P.R.; VENABLE, A. L. E MCKENZIE, K. K. Pathway to carrageenan-induced inflammation in the hind limb of the rat. *Federation Proceedings.*v.46, p. 118-126, 1987.

WEINER, Debra K.; ERNST, Edzard. Complementary and Alternative Approaches to the Treatment of Persistent Musculoskeletal Pain. *Clinical Journal of Pain.* v. 20, n.4, p. 244-255, 2004.

WINTER , C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc.Soc. Exp.Biol. Med.*, v. 111, p. 544-547, 1962.

ZAMORA-MARTÍNEZ M. C.; DE PASCUAL POLA C. N. Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Mexico. *J. Ethnopharmacol.* v. 35, n. 3, p. 229-57, 1992.



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

*Anexo I*



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Goiânia, 27/09/2010

**ATENDIMENTO DE PENDÊNCIA REFERENTE AO PROJETO DE  
PESQUISA, PROTOCOLADO NESTE COMITÊ SOB O Nº: 182/10**

**Título do projeto:** VALIDAÇÃO DE DERIVADOS DO NÚCLEO PIRAZÓLICO E DA MOLÉCULA DO 4-NEROLIDILCATECOL COMO CANDIDATOS A PROTÓTIPOS DE FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS.

**Pesquisador responsável:**

Elson Alves Costa: <http://lattes.cnpq.br/2607893423583912>

**Pesquisadores participantes:**

Ricardo Menegatti: <http://lattes.cnpq.br/8354030864254626>

Roberta Campos Lino: <http://lattes.cnpq.br/0772042164602645>

**Instituição onde será realizado o estudo:** Instituto de Ciências Biológicas e Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás.

**Data de apresentação ao CEP/UFV:** 16/06/2010.

**Atendimento de pendência:**

Temo de anuência do diretor da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, relatando estar de acordo com a incineração das carcaças dos animais utilizados na execução desse projeto.

**Parecer do CEP**

Após análise do projeto "VALIDAÇÃO DE DERIVADOS DO NÚCLEO PIRAZÓLICO E DA MOLÉCULA DO 4-NEROLIDILCATECOL COMO CANDIDATOS A PROTÓTIPOS DE FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS", o mesmo encontra-se em APROVADO, salvo melhor juízo deste comitê.

**Data da reunião:** 27 de setembro de 2010.

  
Prof. João Carlos da Rocha Medrado  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/UFV