

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL
ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA - ESENFAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – PPGCF

ALYNE ALMEIDA DE LIMA

**ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DOS EXTRATOS
AQUOSO E ETANOLICO BRUTOS DE *Cereus jamacaru* DC (MANDACARU)**

MACEIÓ

2019

ALYNE ALMEIDA DE LIMA

**ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DOS EXTRATOS
AQUOSO E ETANÓLICO BRUTOS DE *Cereus jamacaru* DC (MANDACARU)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, para exame de Defesa, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eliane Aparecida Campesatto

:

MACEIÓ

2019

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário Responsável: Marcelino de Carvalho

- L732a Lima, Alyne Almeida de.
Atividades antinociceptiva e anti-inflamatória dos extratos aquoso e etanólico brutos de *Cereus jamacaru* DC (Mandacaru) / Alyne Almeida de Lima. – 2019.
76 f. : il. color.
- Orientadora: Eliane Aparecida Campesatto.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2019.
- Bibliografia: f. 66-72.
Apêndices: f. 73-74.
Anexos: f. 75-76.
1. Cactaceae. 2. Mandacaru. 3. Analgésicos. 4. Anti-inflamatórios. 5. Artrite reumatóide - Tratamento farmacológico. I. Título.

CDU: 615.2:616.72-002



Ata de Exame de Dissertação

Aos vinte e seis dias do mês de julho de 2019, às nove horas, reuniu-se na sala 204 do PPGCF, a banca examinadora composta pelas docentes doutoras, Eliane Aparecida Campesatto, Magna Suzana Alexandre Moreira e Ana Carolina Santana Vieira, para o exame da dissertação intitulada: "Atividade Antinociceptiva e Anti-inflamatória dos Extratos Aquoso e Etanólico Brutos de *Carex jamacaru* (Mandacaru)", elaborada pela mestrande Alynne Almeida de Lima, regularmente matriculada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacéuticas, Nível Mestrado, sob a orientação da Profa. Dra. Eliane Aparecida Campesatto, que apresentou por 50 minutos, a mestrande foi arguida pela banca. Em seguida, reunidos em sessão secreta às 12:00 horas, os examinadores consideraram a dissertação (x) APROVADA OU () APROVADA COM RESTRIÇÃO, emitindo o seguinte parecer: aprovada

reuniu-se na sala 204 do PPGCF, a banca examinadora composta pelas docentes doutoras, Eliane Aparecida Campesatto, Magna Suzana Alexandre Moreira e Ana Carolina Santana Vieira, para o exame da dissertação intitulada: "Atividade Antinociceptiva e Anti-inflamatória dos Extratos Aquoso e Etanólico Brutos de *Carex jamacaru* (Mandacaru)", elaborada pela mestrande Alynne Almeida de Lima, regularmente matriculada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacéuticas, Nível Mestrado, sob a orientação da Profa. Dra. Eliane Aparecida Campesatto, que apresentou por 50 minutos, a mestrande foi arguida pela banca. Em seguida, reunidos em sessão secreta às 12:00 horas, os examinadores consideraram a dissertação (x) APROVADA OU () APROVADA COM RESTRIÇÃO, emitindo o seguinte parecer: aprovada

Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada às 12:15 horas e eu, Daniel de Brito Ricardo, Secretário do PPGCF, Mestrado, lavrei a presente ata que segue assinada pela Banca Examinadora e pela mestrande.

horas e eu, Daniel de Brito Ricardo, Secretário do PPGCF, Mestrado, lavrei a presente ata que segue assinada pela Banca Examinadora e pela mestrande.

Maceló, 26 de julho de 2019

Presidente (Orientadora): Profa. Eliane Aparecida Campesatto

Eliane A. Campesatto

CPF: _____

Examinadora Interna: Profa. Dra. Magna Suzana Alexandre Moreira

Magna S. Alexandre

CPF: _____

Examinadora Externa: Profa. Dra. Ana Carolina Santana Vieira

Ana Carolina Santana Vieira

CPF: _____

Mestrande: Alynne Almeida de Lima

Alynne Almeida de Lima

CPF: _____

A Deus, autor do meu destino, meu guia e a Nossa Senhora, meu amparo e afago nas horas de angústia.

Aos meus pais, Ademir e Jucylene e ao meu irmão Jhonatan por acreditarem no meu sonho junto comigo e serem meu porto seguro.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a **Deus**, por me conceder a graça da vida e permitir a realização de tantos sonhos mesmo diante das turbulências e obstáculos. Por ser minha luz, minha força, meu Tudo. A mãe do céu, **Nossa Senhora**, que sempre me cobre com Seu Manto Sagrado e me acolhe em seu colo.

Aos meu pais, **Ademir Lima** e **Jucylene Almeida** e ao meu irmão **Jhonatan Almeida**, que sempre foram exemplo de fé, força e coragem para acordar e enfrentar um dia após o outro. Por ensinar o caminho da fé e a ser uma mulher que busca seus sonhos. A **toda família** por acreditar e sempre rezar por mim e em especial ao meu **Tio Petronio**, que coletou as amostras da espécie comigo.

Ao meu noivo, **Max Viana**, que esteve comigo mesmo antes de ser o meu amor, sempre foi um amigo, o melhor amigo nos momentos difíceis e que pensei em desistir. O seu abraço é o meu melhor lugar. Obrigada por ser minha segurança e por compreender os momentos de estresse e lágrimas.

A minha orientadora **Prof^a Dr^a Eliane Aparecida Campesatto**, foi por presenciar o seu brilhante profissionalismo na área da farmacologia que vim parar em outro estado. Agradeço imensamente a oportunidade e, principalmente, a confiança em aceitar uma menina no interior cheia de sonhos e acreditar neles junto comigo, como mãe.

A **Prof^a Dr^a Magna Suzana Alexandre Moreira**, por me acolher desde o início, aconselhar e estar presente em vários momentos, com a palavra certa, no momento certo e com aquele abraço todas as manhãs.

A todos que fazem o **Laboratório de Farmacologia e Imunidade**, em especial ao **Geraldo, Anderson, Suellen, Pedro, Raphael, Ingrid, Fernanda, Monike, Iara, Karoline, Alisson, Shakira**, que me ajudaram na realização dos experimentos e na manutenção dos animais.

Aos amigos, **Pe Renan Silva, Pe Alessandro Jorge, Pe. Adriano Davi, Márcia, Josemar, Cynthia, Laís, Andréa, Danielle, Valéria, Ísis e Viviane**, que sempre torcem, rezam e acreditam em mim. Você tornam minha vida mais feliz e a caminhada mais leve. Saber que tenho vocês é ter, ainda mais, a certeza da presença de Deus nos meus caminhos.

Ao **Biotério Central da UFAL** pelo cuidado com os animais utilizados nesta pesquisa e a todos do **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas-PPGCF-UFAL**.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES)** e à **Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL)** pelo apoio financeiro.

Muito obrigada a todos!

RESUMO

A família das Cactaceae é abundante na região Nordeste e a espécie *Cereus jamacaru* (popularmente conhecida como mandacaru) é uma das mais importantes. Estudos etnobotânicos apresentam inúmeros benefícios medicinais, tais como atividades anti-inflamatórias, antireumáticas, antieméticas, anticonstipante, antihipertensivas e diuréticas. Portanto, este estudo objetivou a avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória dos extratos aquoso (EABCJ) e etanólico (EEBCJ) bruto da *C. jamacaru*. Os extratos foram preparados a partir da espécie coletada em Cachoeirinha-PE. Inicialmente foi realizado ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT e posteriormente iniciados os testes *in vivo* através do ensaio de toxicidade aguda. Foram utilizados camundongos Swiss (n = 6), adultos, de ambos os sexos, com=25-35 g, provenientes do Biotério Central da UFAL, sob aprovação no Comitê de Ética no Uso de Animais (27/2018). No ensaio de viabilidade celular, os EEBCJ, EABCJ e EEBCJ-L não reduziram a viabilidade celular com exceção para a concentração de 100 µg/mL do EEBCJ-L. No teste de toxicidade aguda utilizou-se a dose de 2000 mg/kg e não foi observado nenhum sinal de toxicidade dos EEBCJ e EABCJ quando administrado por via oral. Para avaliar a atividade antinociceptiva foi utilizado o extrato nas doses de 100, 150 e 300 mg/kg no ensaio de contorção abdominal induzida por ácido acético e nos demais ensaios 150 mg/kg; nocicepção induzida por formalina ou glutamato e placa quente. A avaliação anti-inflamatória foi analisada através dos ensaios de peritonite induzida por zymosan (doses 100, 150 e 300 mg/kg) e ensaio de indução da síndrome de artrite experimental com adjuvante completo de Freund além do teste de barra giratória para investigar um possível efeito dos extratos sobre a performance motora dos animais. Estudos de prospecção fitoquímica dos extratos (EEBCJ e EABCJ), mostrou a presença de metabólitos secundários da classe das antraquinonas, flavonoides, taninos, alcaloides e de saponinas apenas no EEBCJ. Os estudos mostraram ainda que as doses utilizadas não induziram sinais de toxicidade *in vitro* nem *in vivo*. O tratamento com EEBCJ ou EABCJ inibiram as contorções induzidas pelo ácido acético nas doses de 100 (36,87%) e 150 mg/kg (57%) do EEBCJ; 150 (53,39%) e 300 mg/kg (45%) do EABCJ. No ensaio de nocicepção induzida por formalina, o EEBCJ e EABCJ inibiram 41,92% e 43,01% respectivamente na fase I e 32,67% e 46,24% na fase II. No ensaio de nocicepção induzida glutamato, observou-se uma inibição de 60,43% (EABCJ) e 47,21% (EEBCJ). No ensaio de algisia provocado por aquecimento (placa quente), foram observadas alterações no tempo de latência dos animais no tempos de 60, 90 e 120 minutos para o EABCJ e 90 e 120 para o EEBCJ. O EABCJ (doses 100, 150 e 300 mg/kg) no ensaio de peritonite apresentou uma inibição do recrutamento leucocitário de forma estatisticamente significativa em 61,16%, 66,62% e 66,05% e o EEBCJ (doses de 100 mg/kg e 150 mg/kg) apresentaram uma redução de 73,53% e 59,49%, respectivamente. No ensaio de artrite induzida pelo adjuvante completo de Freund os extratos EEBCJ e EABCJ apresentaram atividade anti-inflamatória na concentração de 150 mg/Kg. Finalmente, a ausência de efeito no ensaio da barra giratória sugeriu que os extratos não apresentam efeito sobre a função motora dos animais. Desta forma, esta pesquisa contribui para o estudo etnofarmacológico e fitoquímico, da espécie *C. jamacaru* e corrobora o uso na medicina popular como anti-inflamatória.

Palavras- chave: Cactaceae. Mandacaru. Analgésicos. Anti-inflamatórios. Artrite reumatoide – Tratamento farmacológico.

ABSTRACT

The family of Cactaceae is abundant in the Northeast region and the species *Cereus jamacaru* (popularly known as mandacaru) is one of the most important. Ethnobotanical studies have numerous medicinal benefits, such as anti-inflammatory, anti-rheumatic, antiemetic, anticonstipant, antihypertensive and diuretic activities. Therefore, this study aimed to evaluate the antinociceptive and anti-inflammatory activities of crude aqueous extracts (EABCJ) and ethanolic (EEBCJ) of *C. jamacaru*. The extracts were prepared from the species collected in Cachoeirinha-PE. Cell viability assay was performed by the MTT method and then the in vivo tests were initiated by the acute toxicity test. Swiss mice ($n = 6$), adults, of both sexes, with 25-35 g, were obtained from the UFAL Central Animal Hospital, under approval by the Committee on Ethics in the Use of Animals (27/2018). In the cell viability assay, EEBCJ, EABCJ and EEBCJ-L did not reduce cell viability except for the 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$ EEBCJ-L concentration. In the acute toxicity test the dose of 2000mg / kg was used and no signs of toxicity of the EEBCJ and EABCJ were observed when administered orally. To evaluate antinociceptive activity, the extracts were used at the doses of 100, 150 and 300 mg / kg in the acetic acid-induced abdominal writhing test and in the other trials 150 mg / kg; nociception induced by formalin or glutamate and hot plate. The anti-inflammatory evaluation was analyzed by the zymosan-induced peritonitis trials (doses 100, 150 and 300 mg / kg) and Freund's complete adjuvant experimental arthritis syndrome induction assay in addition to the spin-bar test to rule out a possible effect of alteration of the motor performance of the animals. The results showed the presence of anthraquinones, flavonoids, tannins, alkaloids for EEBCJ and EABCJ, and saponins only in EEBCJ. that the doses used did not induce signs of toxicity in vitro or in vivo. Treatment with EEBCJ or EABCJ inhibited the nociceptive-induced contortions of acetic acid at the doses of 100 (36.87%) and 150 mg / kg (57%) of the EEBCJ; 150 (53.39%) and 300 mg / kg (45%) of EABCJ. In the formalin-induced nociception test, the EEBCJ and EABCJ inhibited 41.92% and 43.01% respectively in phase I and 32.67% and 46.24% in phase II. In the glutamate assay, an inhibition of 60.43% (EABCJ) and 47.21% (EEBCJ) was observed. In the hot plate, changes in the latency time of the animals were observed at 60, 90 and 120 minutes for EABCJ and 90 and 120 for EEBCJ. EABCJ (doses 100, 150 and 300 mg / kg) in the peritonitis test showed statistically significant inhibition of leukocyte recruitment in 61.16%, 66.62% and 66.05%, and EEBCJ (doses of 100 mg / kg and 150 mg / kg) presented a reduction of 73.53% and 59.49%, respectively. Freund's complete adjuvant-induced arthritis assay demonstrated anti-inflammatory activity of the EEBCJ and EABCJ at the concentration of 150mg / kg. Finally, the rotating rod test suggested no effect on the motor function of the animals. Thus, this research contributes to the ethno-pharmacological and phytochemical study of the *C. jamacaru* plant species and corroborates the use in folk medicine as an anti-inflammatory.

Keywords: Cactaceae. Mandacaru. Anagelsics. Anti-inflammatory. Rheumatoid Arthritis – Phamacologic Treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Nódulo reumatóide na superfície anterior do braço.....	26
Figura 2	Representação da espécie <i>C. jamacaru</i> (Mandacaru).....	30
Figura 3	Uso popular de <i>C. jamacaru</i> para fins medicinais.....	32
Figura 4	<i>C. jamacaru</i> (mandacaru).....	34
Figura 5	Material vegetal fracionado.....	35
Figura 6	Filtração do extrato.....	35
Figura 7	Contorção abdominal induzida por ácido acético.....	40
Figura 8	Esquema do ensaio de contorção abdominal induzida por ácido acético	40
Figura 9	Esquema do ensaio de nocicepção induzida por formalina.....	41
Figura 10	Esquema do ensaio de nocicepção induzida por glutamato.....	42
Figura 11	Esquema do ensaio de placa quente.....	43
Figura 12	Esquema do ensaio de peritonite induzida por Zymosan.....	44
Figura 13	Esquema do ensaio de indução da síndrome de artrite experimental com adjuvante completo de Freund's.....	45
Figura 14	Teste de barra giratória.....	46
Figura 15	Esquema do teste de barra giratória.....	46
Figura 16	Solubilidade dos EEBCJ (a esquerda) e EEBCJ-L (a direita)...	53

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Efeito dos EEBCJ, EABCJ, EEBCJL sobre a viabilidade de macrófagos da linhagem J774 no ensaio de MTT.....	49
Gráfico 2	Média do consumo de ração pelos camundongos <i>Swiss</i> tratados EEBCJ, EABCJ e EELCJ.....	51
Gráfico 3	Média do consumo de água pelos camundongos <i>Swiss</i> tratados EEBCJ, EABCJ e EELCJ.....	52
Gráfico 4	Efeito dos EEBCJ e EABCJ no ensaio de cotorção abdominal induzida por ácido acético em camundongos <i>Swiss</i>	54
Gráfico 5	Efeito dos EEBCJ e EABCJ nas fases neurogênica e inflamatória do ensaio de nocicepção induzida por formalina.....	56
Gráfico 6	Efeito dos EABCJ e EEBCJ no ensaio de nocicepção induzida por glutamato.....	57
Gráfico 7	Efeito antinociceptivo central dos EEBCJ e EABCJ no ensaio de placa quente.....	59
Gráfico 8	Efeito dos EEBCJ e EABCJ no ensaio de peritonite induzida por Zymosan.....	60
Gráfico 9	Efeito dos EEBCJ e EABCJ no ensaio de atrite induzida pelo adjuvante completo de Freund.....	62
Gráfico 10	Gráfico 10 - Efeito dos EEBCJ e EABCJ na alteração do peso dos órgãos (fígado, baço, rim e estômago) no ensaio de atrite induzida pelo adjuvante completo de Freund.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resultados da identificação fitoquímica dos EEBCJ e EABCJ....	47
Tabela 2	Efeito dos EABCJ e EEBCJ na coordenação motora de camundongos no teste da barra giratória.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celcius
a.C	Antes de Cristo
AIES	Anti-inflamatório esteroidal
AINES	Anti-inflamatório não esteroidal
ANOVA	Análise de Variância
AR	Artrite Reumatóide
CAM	Metabolismo Ácido das Crassuláceas
CEUA	Comitê de Ética para Uso de Animais
cm	Centímetros
CO₂	Gás carbônico
COX	Ciclooxigenase
d.C	Depois de Cristo
DEXA	Dexametasona
DIP	Dipirona
DL 50	Dose Letal Média
DMSO	Dimetilsufóxido
DMARD	Drogas antirreumáticas modificadoras do curso da doença
DZP	Diazepam
e.p.m.	Erro padrão da média
EABCJ	Extrato aquoso bruto de <i>C. Jamacaru</i>
EEBCJ	Extrato etanólico bruto de <i>C. Jamacaru</i>
EEBCJ-L	Extrato etanólico bruto de <i>C. jamacaru</i> - planta liofilizada
FLS	Fibroblastos
G	Grama
GL	Glicocorticoide
H	Hora
HCL	Ácido Clorídrico
ICBS	Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde
IFN	Interferon
IL	Interleucina
IND	Indometacina

i.p.	Intraperitoneal
Kg	Quilograma
Km	Quilômetros
LAFI	Laboratório de Farmacologia e Imunidade
LOX	Lipooxigenase
MCP	proteínas quimiotáticas de monócitos
min	Minutos
mg	Miligrama
mL	Mililitros
Mm	Milímetros
mM	Milimol
MOR	Morfina
MTT	[3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]
NaCl	Cloreto de Sódio
Nm	Nanômetro
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintase
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Pureza analítica
PBS	Tampão fosfato salina
PG	Prostaglandinas
PIC	Prática Integrativa Complementar
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas Complementares
Rpm	Rotação por minuto
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
S	Segundos
SAL	Salina
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SUS	Sistema Único de Saúde
TGI	Trato gastrointestinal
TH	Células T efectoras

TNF	Fator de Necrose Tumoral
Treg	Células T reguladoras
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
v.o.	Via oral
Mg	Micrograma
μL	Microlitro
μM	Micromolar
μmol	Micromol
A	Alfa
B	Beta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1	Dor e nocicepção	19
2.2	Processo Inflamatório	22
2.2.1	Artrite Reumatoide	24
2.3	Tratamentos farmacológicos da dor e inflamação	26
2.4	Produtos naturais como fonte de substâncias bioativas	27
2.5	<i>Cereus jamacaru</i> DC	29
3	OBJETIVOS	31
3.1	Objetivo geral	31
3.2	Objetivos específicos	31
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1	Reagentes, soluções e fármacos	33
4.2	Coleta e preparação dos extratos	34
4.3	Avaliação fitoquímica	36
4.3.1	Alcaloides	36
4.3.2	Taninos	36
4.3.3	Flavonóides	36
4.3.4	Saponinas	36
4.3.5	Antraquinonas	36
4.4	Ensaio farmacológicos	37
4.4.1	Animais	37
4.4.2	Ensaio de viabilidade celular – MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium brometo	38
4.4.3	Teste de toxicidade aguda in vivo	38
4.4.4	Avaliação da atividade antinociceptiva	39
4.4.4.1	Ensaio de contorção abdominal induzida por ácido acético	39
4.4.4.2	Ensaio de nocicepção induzida por formalina	41
4.4.4.3	Ensaio de nocicepção induzida por glutamato	42
4.4.4.4	Ensaio da placa quente	42
4.4.5	Avaliação da atividade anti-inflamatória	43
4.4.5.1	Ensaio de peritonite induzida por Zymosan	43

4.4.5.2 Ensaio de indução da síndrome de artrite experimental com adjuvante de Freund's.....	44
4.4.6 Avaliação da performance motora.....	45
4.4.6.1 Ensaio da barra giratória.....	45
4.5 Análise estatística.....	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
5.1 Rendimento dos extratos.....	47
5.2 Avaliação fitoquímica.....	47
5.3 Ensaio de viabilidade celular – MTT.....	48
5.4 Modelos de experimentação <i>in vivo</i>.....	50
5.4.1 Teste de toxicidade aguda.....	50
5.4.2 Avaliação da atividade antinociceptiva.....	53
5.4.2.1 Ensaio de contorção abdominal induzida por ácido acético.....	53
5.4.2.2 Ensaio de nocicepção induzida por formalina.....	55
5.4.2.3 Ensaio de nocicepção induzida por glutamato.....	56
5.4.2.4 Ensaio de placa quente.....	58
5.4.3 Avaliação da atividade anti-inflamatória	59
5.4.3.1 Ensaio de peritonite induzida por Zymosan.....	59
5.4.3.2 Ensaio de indução da síndrome de artrite experimental com adjuvante completo de Freund's.....	61
5.4.4 Avaliação da performance motora.....	64
5.4.4.1 Ensaio de barra giratória.....	64
6 CONCLUSÃO.....	65
REFERÊNCIAS.....	67
APÊNDICES.....	74
Apêndice A - Ficha de avaliação do 1º dia de treino dos camundongos no teste da barra giratória.....	74
Apêndice B – Ficha de avaliação do 2º dia de treino dos camundongos no teste da barra giratória.....	75
ANEXOS.....	76
Anexo I – Certidão de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFAL).....	74
Anexo II – Fluxograma para estudo observacional (OECD).....	75

1 INTRODUÇÃO

A dor debilita grande parte da população principalmente por ser recorrente nas mais diversas morbidades. Além de estar relacionada a altos custos com tratamentos e promover o afastamento laboral, resultando em consequências psicológicas, sociais e econômicas. De acordo com a Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor (SBED), a dor afeta pelo menos 30% dos indivíduos durante algum momento da sua vida e tem duração superior a um dia entre 10 a 40% dos casos (SBED, 2012; LOPES, 2012).

Embora o tratamento de doenças severas tenha avançado, ainda existe uma grande deficiência nos processos terapêuticos de gerenciamento da dor decorrente destas doenças. Assim, a dor e também a inflamação são consideradas problemas de saúde mundial e acarretando inúmeras consequências. (HENSCHKE; KAMPER; MAHER, 2015).

Atualmente, para o tratamento da dor e inflamação são utilizados anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), esteroidais (AIEs) e analgésicos opioides e não-opioides. Eles apresentam diversas reações em pacientes que já possuem comorbidades crônicas como: diabetes *mellitus*, hipertensão arterial, problemas renais crônicos ou no trato gastrointestinal e que resultam em mais prejuízos funcionais com a administração crônica de fármacos destas classes (CARVALHO et al., 2016).

É de extrema importância, portanto, um estudo que confirme cientificamente o conhecimento popular de espécies com potencial analgésico e anti-inflamatório para a sociedade. A procura por alternativas de tratamento é incessante devido ao incômodo, às limitações provocadas pelas condições destas afecções, optando por uso inadequado de medicamentos como os AIEs, por períodos e doses maiores que o recomendado. Frente a isto, o mandacaru e outras cactáceas apresentam baixa toxicidade, justificado pelo fato de serem empregados como fonte de alimento para fauna silvestre, principalmente nos períodos de seca (BAHIA-EVA et al., 2014; BRITO et al., 2010).

O uso de plantas medicinais é prática comum entre a população no tratamento de diversas doenças. A Organização Mundial da Saúde (OMS) tem colocado o uso em fitoterápicos como uma de suas políticas prioritárias. O Brasil

possui um vasto potencial de desenvolvimento destes medicamentos devido sua ampla biodiversidade natural. A região nordeste apresenta um bioma vasto e de significativa importância farmacológica, a caatinga (HOEFFEL, et al, 2011; ROQUE, et al, 2010.)

Dentre as diversas famílias de plantas nativas, a Cactacea se destaca como uma das famílias mais presentes na região, sendo o mandacaru (*C. jamacaru*) uma das principais representantes. É encontrada desde a Bahia até a Paraíba sendo utilizada medicinalmente pela população em diversos distúrbios (ANDRADE, MARQUE E ZAPPI, 2006).

Trata-se de uma espécie nativa e encontrada em abundância na região nordeste, com uso popular para afecções inflamatórias e processos dolorosos. Assim, é de suma importância um estudo que comprove cientificamente este conhecimento popular, principalmente pelo fato de ser uma planta nativa da região e que possa trazer novas alternativas terapêuticas com atividades analgésicas e anti-inflamatórias (HOEFFEL, et al, 2011).

Estudos realizados por Andrade, Marques e Zappi (2006) no sertão da Bahia baseado no conhecimento popular demonstrou a utilização do mandacaru no tratamento de inflamações nas regiões genitais e lombalgias. Outro estudo etnofarmacológico destacou o uso para bronquite e outras inflamações respiratórias. Logo, o conhecimento popular quanto ao uso desta espécie traz perspectiva de identificação de novos ativos farmacológicos, com efeitos analgésicos e anti-inflamatório, e possibilidades para evolução fitofarmacológica e produção de novos medicamentos.

Nesse contexto, este trabalho visou avaliar as propriedades fitoquímicas e atividades antinociceptiva e anti-inflamatória dos extratos aquoso e etanólico brutos de *C. Jamacaru* fomentando a pesquisa de novos candidatos a fitoterápicos para o tratamento da dor e inflamação.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Dor e nocicepção

A dor física é uma experiência vivenciada por todos, mas a intensidade com que a mesma ocorre, assim como o caráter e a tolerância, são altamente subjetivos, variando de pessoa para pessoa. Portanto, os efeitos causados por um processo doloroso podem ser influenciados direta ou indiretamente por fatores culturais, psicológicos e até mesmo sociais (WOLKERSTORFER et al., 2016).

Grande parte das doenças crônicas desencadeiam o processo de dor e, em muitos casos, esse é o primeiro sinal clínico aparente (PRÁ et al., 2017), motivo pelo qual o paciente se reporta ao estabelecimento de saúde em busca de atendimento. De acordo com Saldanha et al. (2017), a dor é um fator importante para a saúde pública e que interfere diretamente na qualidade de vida do paciente, podendo limitá-lo à realização de atividades e reduzindo sua produtividade.

O processo doloroso não se resume apenas a uma sensação, é acompanhado por convicções pessoais, expectativas envolvidas, culturas e experiências vividas, demonstrando assim, ser a percepção da dor, um evento complexo para o paciente e o cuidador (FONG; SCHUG, 2014).

A dor é classificada como: nociceptiva, neuropática e inflamatória (ou disfuncional). Bouhassira e Attal (2016) descrevem a dor nociceptiva como aquela que é desencadeada através de um estímulo nocivo como queimadura, cirurgias, aparecimento de tumores, traumas e infecções. Já a dor neuropática tem relação com o sistema nervoso central (SNC) ou sistema nervoso periférico (SNP) e geralmente essas dores incapacitam o paciente a cumprir atividades rotineiras.

A nocicepção é o processamento do estímulo nocivo dado através de um processo neural de codificação (NAIDU; PAHM, 2015). Para que haja o desencadeamento de eventos sensitivos-dolorosos é necessário um estímulo ambiental, seja ele físico ou químico, que será transduzido e enviado das fibras nervosas periféricas até o SNC. Os nociceptores presentes nos tecidos são os responsáveis por realizar o processo de transdução. Quando um estímulo é aplicado ao organismo, essas terminações nervosas são acionadas gerando uma informação de agressão que é enviada até o tálamo, posteriormente interpretada e respondida através de um neurônio motor (TEIXEIRA, 2001;GOZANNI, 2003).

De acordo com Klaumann e colaboradores (2008) e Mathews e colaboradores (2014) as responsáveis pela primeira fase da dor são as fibras-A-delta. Esta fase é caracterizada pela intensidade e pela velocidade de transmissão com sensibilidade à

estímulos intensos. Estas fibras normalmente não são associadas à nocicepção mas à estímulos inócuos, mas após lesão tecidual alterações celulares podem ocorrer e após sensibilização da periferia, transmitir a informação nociceptiva. Já a segunda fase da dor é produzida pelas fibras C, sendo esta fase descrita como difusa e persistente que, na periferia, formam receptores com alto limiar para estímulos térmicos e/ou mecânicos.

Gozanni (2003) explica que após a agressão ao tecido, as células danificadas liberam enzimas que atuam em ácidos graxos de cadeia longa e cininogênio formando as cininas, com destaque para a bradicinina. A fosfolipase A2 desencadeia a liberação de ácido aracdônico a partir da membrana da célula ativando outros mediadores inflamatórios. Então, a biossíntese de prostaglandinas atua na redução do limiar de excitabilidade dos nociceptores fazendo com que estímulos de menor intensidade consigam ativa-los.

Além destes supracitados, existem alguns outros mediadores participam da sensibilização periférica e o resultado desta sensibilização é o estabelecimento de hiperalgesia. Quando canais iônicos e receptores específicos, encontrados na maioria dos tecidos, são ativados se inicia a propagação do potencial de ação que percorre todo o axônio das fibras primárias aferentes até os sítios de sinapses presentes na medula espinhal. Este processo desencadeia a liberação dos neurotransmissores (como glutamato e substância P) que ativarão os neurônios presentes na medula espinhal (HELLYER et al., 2007, McKUNE et al., 2015).

Diversos receptores, pré e pós-sinápticos participam da transmissão nociceptiva na medula espinhal. Entre os pré-sinápticos estão os opioides kappa e mu/delta, alfa2-adrenérgicos, serotoninérgicos 5HT₂, GABA b e neurocinina. Já na posição pós-sináptica os serotoninérgicos 5HT_{1b}, GABA a e b, AMPA, adenosina, NMDA, mu, mu/delta e alfa2-adrenérgicos (GOZANNI, 2003).

Seres humanos, de acordo com a literatura, são semelhantes e animais quanto à neuroanatomia das vias nociceptivas e aos mecanismos fisiológicos de nocicepção. É definido que, a dor não pode existir sem um componente emocional ou afetivo, não diferenciando em animais (KRAMER et al., 2016). Portanto, a suposição é que a diferença entre cada indivíduo não esteja na forma como a dor é sentida, mas sim na reação diante do estímulo (TEIXEIRA, 2010). A interpretação do estado doloroso em experimentos animais de nocicepção deve ser observada

através dos comportamentos, direcionados em geral, por respostas de retirada mediante estímulo mecânico ou térmico de tecidos periféricos na maioria dos casos ocorrendo nas patas ou cauda (VIERCK; YEZIERSKI, 2015; WHITTAKER; HOWARTH, 2014; KRAMER et al., 2016).

Pode-se inferir que a percepção da dor em humanos ocorre através de diversos componentes: neurais, fisiológicos, comportamentais e emocionais. Enquanto, nos animais, apenas os mecanismos neurais e fisiológicos são passíveis de mensuração, o que se denomina nocicepção. Além disto, a dor corresponde a um dos sinais clássicos do processo inflamatório que compartilha a capacidade de sensibilizar ou ativar nociceptores (WALL; MELZACK, 1999; JULIUS; BASBAUM, 2001; NAVRATILOVA et al., 2010).

Enquanto a dor inflamatória, de acordo com Zhu e Lu (2010), semelhantemente à dor nociceptiva, tem a função de proteção ao organismo. Participante dos sinais cardinais da inflamação, esse tipo de dor é desencadeado pela ativação do sistema imunológico após a ocorrência de lesão (seja tecidual ou infecciosa), modificando ou ativando respostas aferentes nociceptivas aos estímulos. Mesmo caracterizada como dor adaptativa, este tipo de dor deve ser tratada em pacientes com inflamação recorrente, como nos portadores de artrite reumatoide, pois a dor persiste enquanto houver inflamação ativa (COSTIGAN; SCHOLZ; WOOLF, 2009; CHANDRATRE et al., 2013).

2.2 Processo Inflamatório

Bello et al. (2015) descrevem o processo inflamatório como uma série complexa de eventos bioquímicos e celulares agindo diretamente com o extravasamento de fluidos, migrações celulares, liberação de mediadores, ativações enzimáticas, sensibilização e ativação de receptores.

O recrutamento dos leucócitos é uma das principais características do início da resposta inflamatória. Essa migração leucocitária do sangue ao local de ocorrência da lesão, através do endotélio, e essa passagem é definida como diapedese que inicia com a ligação e distribuição destas células à parede do vaso, e posterior aderência e degradação da membrana basal, finalizando com a migração para o tecido que foi lesionado (ASHLEY et al., 2012)

Em resposta à agressão ao tecido, uma via metabólica é iniciada com a ativação da enzima fosfolipase A2 (PLA2) esta que hidrolisa os fosfolípidos de membrana em ácido araquidônico (AA). O AA é utilizado como substrato para duas vias enzimáticas que são: a via da cicloxigenase (COX) ou da lipoxigenase (LOX). Pela via da COX é gerada a prostaglandina H2 (PGH2), esta que estimula a formação de prostaglandinas (PGI2, PGE2, PGD2, PGF2 α) e tromboxano A2 (TXA2). Já pela via da LOX são formados leucotrienos, lipoxinas e outros mediadores (BATLOUNI, 2010).

Os produtos do metabolismo do AA são denominados de eicosanoides. Importantes funções na indução e propagação de doenças, principalmente as inflamatórias, são realizadas pelos eicosanoides. Sendo, portanto, um dos principais alvos terapêuticos destacados para o desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios (CASTRO, 2011).

Vários são os estímulos, endógenos ou exógenos, que podem causar lesões celulares desencadeando um processo inflamatório. Os sinais da ocorrência de processo inflamatório apareciam registrados nos papiros egípcios desde 3000 a.C., mas somente no primeiro século d.C um escritor romano chamado Celsus, citou os quatro sinais da inflamação: dor, rubor, calor e tumor, este último, atualmente denominado de edema. Depois, Virchow, adicionou a esses sinais da inflamação, a chamada *functio laesa*, ou seja, perda de função (COLLINS, 1999).

Esses sinais refletem um processo de defesa do organismo que sofreu um dano, traumático, tóxico, autoimune ou infeccioso. Trata-se de uma ação regulada por diversos tipos celulares e várias moléculas, caracterizado por um ato intrínseco ao organismo como uma forma de remoção de microorganismos ou fatores irritantes que estejam alterando a homeostasia, na tentativa de reparo tecidual e de promoção da cura (KUMAR, 2005).

A inflamação pode ocorrer de forma sistêmica, ou seja, a injúria foi causada por um processo cirúrgico, trauma ou infecção; ou local, neste caso causada por alguma lesão externa (RONCHETTI; MIGLIORATI; DELFINO, 2017). Mulla (2010) descreve a inflamação como um processo multicelular e multimolecular no qual proteínas plasmáticas e segundos mensageiros atuam coordenadamente. Essa resposta gerada ocorre em duas fases: aguda e crônica.

A fase aguda é iniciada por macrófagos e neutrófilos teciduais ou mastócitos que ativam as citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas, aminas vasoativas e eicosanóides os quais irão amplificar a resposta do sistema imune, aumentar a permeabilidade, migração e morte celular (HEADLAND; NORLING, 2015). A migração dos neutrófilos para o tecido lesado e a exsudação das proteínas caracterizam a fase aguda. As selectinas e as integrinas são as proteínas transmembranares que permitem a infiltração dos neutrófilos, seu rolamento e adesão pelo decorrer da parede do vaso e do tecido inflamado. Após esse processo, ocorre a migração dos monócitos que sofrem diferenciação para macrófagos e promovem a retirada dos neutrófilos apoptóticos e dos demais detritos (FREIRE; VAN DYKE, 2013).

O processo inflamatório na fase crônica se caracteriza pela presença dos sinais e sintomas por semanas, meses podendo chegar até anos, provocando degeneração dos tecidos e está diretamente relacionado ao aparecimento de outras doenças como: síndrome metabólica, doença de Crohn, osteoartrite e artrite reumatóide (AR) (NASEF; MEHTA; FERGUSON, 2017; MACHADO, 2017).

A recuperação do tecido lesionado, na maioria dos pacientes, ocorre de forma natural, sem a necessidade de medicamentos e/ou outras intervenções. Entretanto, numa inflamação como a AR, o processo inflamatório progride para uma inflamação crônica, podendo ser altamente prejudicial ao organismo (WATSON, 2012).

2.2.1 Artrite reumatóide

Nas últimas décadas tem sido mais comumente casos de AR. Ela é três vezes mais comum em pessoas do sexo feminino, porém sua incidência é praticamente igual entre ambos os sexos, a partir da idade em que as mulheres atingem a menopausa. Sua prevalência e incidência variam consideravelmente entre áreas e ao longo dos anos. A taxa de prevalência em todo o mundo está entre 0,3 a 1,2% e a incidência anual varia em torno de 0,2 a 0,4 novos casos por mil pessoas (GARCIA-DIAZ; COROMINAS, 2013).

A AR consiste numa doença inflamatória autoimune incapacitante, de causa desconhecida, caracterizada por dor significativa, incapacidade funcional e distúrbio articular progressivo, sendo a causa de mortalidade prematura e morbidade

significativas. Acredita-se que se origina através de interações entre vários fatores, que podem ser genéticos ou ambientais, tendo como resultado danos nas estruturas sinoviais, a partir de um processo inflamatório ocasionado (SANTOS et al., 2017).

O desconhecimento das causas prováveis de AR, direcionou sua vulnerabilidade para a combinação da resposta inflamatória crônica juntamente com fatores genéticos. A hereditariedade foi estimada em cerca de 50 a 60% dos casos, demonstrando que estes fatores são notáveis influenciadores da suscetibilidade da doença (STYPINSKA et al., 2018).

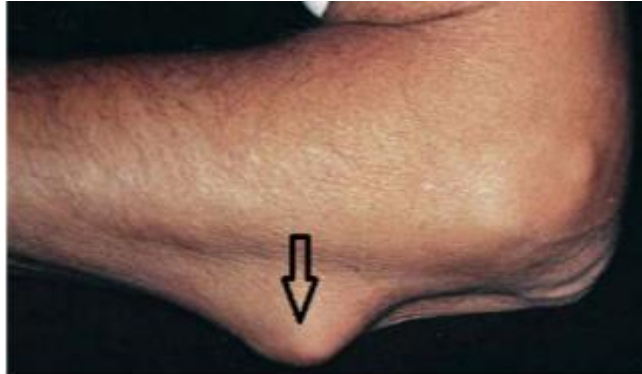
A AR pode causar destruição do osso e da cartilagem da região afetada, devido à persistente sinovite, o que pode gerar uma incapacidade crônica, debilitando movimentos e resultando em inflamação grave crônica juntamente com outros sintomas sistêmicos (HUANG et al., 2018). Pacientes relatam dor intensa e inchaço na região, fato que está relacionado a erosão nas articulações e consequente deformidades características da doença (ALDRICH et al., 2017). Além de dor podem apresentar rigidez articular e muscular crônicas. Os pacientes com AR também se tornam mais propensos a alterações emocionais e psicológicas, devido ao estresse pós-traumático (LUMLEY et al., 2018).

A presença de nódulos reumatóides (Figura 1) é uma das características da AR. São encontrados no tecido subcutâneo da superfície extensora de antebraços, coração, cordas vocais e pulmões, o que pode culminar em vasculite em pequenos vasos, necrose e desenvolvimento aumentado de fibroblastos e histiócitos epiteliais. Os nódulos possuem uma área central necrosada, associados a células epitelioides e células mononucleares, visto a partir do exame microscópico. Estes podem se desenvolver em pequena ou grande quantidade, localizando-se nos antebraços, metacarpo e falanges, medindo de 2 mm a 5 cm, correspondendo a uma manifestação extra-articular que ocorre em 20 a 25 % dos pacientes (CARVALHO; CARDOSO; ERRANTE, 2016).

Desta forma, compreende-se a busca pela possibilidade de facilitar ou promover a normalidade da reparação tecidual por intermédio da otimização dos eventos envolvidos na inflamação (WATSON, 2012). Assim, constitui uma necessidade eminente a descoberta de novas substâncias que possam ser empregadas na prevenção, controle e/ou cura dos processos inflamatórios sem, no

entanto, interferir em seus efeitos benéficos, com melhor eficácia e menores complicações ao paciente.

Figura 1 - Nódulo reumatoide na superfície anterior do antebraço.



Fonte: Carvalho; Cardoso; Errante (2016).

2.3 Tratamentos farmacológicos da dor e inflamação

O principal foco das pesquisas relacionadas ao tratamento da AR está na busca pela diminuição ou remissão dos sintomas nos pacientes como forma de controle além da evolução da doença (erosões e deformações articulares) a tentativa de preservar uma boa função da articulação. Atualmente o tratamento é realizado com a utilização de anti-inflamatórios, em especial os esteroidais ou glicocorticóides (GL), medicamentos inibidores do curso da doença (DMARD – drogas antirreumáticas inibidoras do curso da doença) e alguns imunossupressores. (SMOLEN, et al 2014; MOTA et al, 2012).

Os AINES são bastante utilizados em doenças crônicas com sintomatologia composta de dores musculoesqueléticas agudas e crônicas, sendo utilizado na fase inicial do tratamento da AR até inserção do DMARD. Os AINES irão auxiliar no tratamento da dor e na redução da rigidez matinal em caso de AR, por exemplo. Os AINES podem inibir COX-1 e COX-2 (não seletivos) ou somente COX-2 (seletivos) inibindo a síntese de PG desencadeando sua ação anti-inflamatória, analgésica e antitérmica mas podendo causar alterações no trato gastrointestinal (TGI), insuficiência renal, problemas cardiovasculares, entre outros (COTTRELL, CONNOR, 2010; KUMAR, BANIK, 2013)

Os AINES, também chamados de GL, são utilizados no tratamento da AR, visto que, os AINES não tem atividade inibitória para desenvolvimento de erosões ósseas.

Os GL tem a capacidade de auxiliar na remissão da doença pois inibe a liberação de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 e TNF- α , mas produzem efeitos colaterais intensos permitindo seu uso por um curto período de tempo além da recomendação da reposição de cálcio e vitamina D quando em uso por um período maior que 90 dias (TREVISANI, FIDELIX, APPENZELLER, 2011; LAEV, SALAKHUTDINOV, 2015).

Os DMARD são introduzidos quando o diagnóstico de AR é fechado. São divididos em químicos sintéticos ou biológicos mas, ambos desencadeiam efeitos adversos graves como hepatotoxicidade, alopecia, alterações do TGI, complicações no sistema respiratório e mielossupressão (SMOLEN et al., 2013; WILSDON, HILL, 2017)

2.4 Produtos naturais como fonte de substâncias bioativas

Os produtos advindos de matéria-prima natural apresentam um grande potencial para obtenção de novos fármacos com finalidades terapêuticas e para o desenvolvimento farmacêutico (NOGUEIRA, 2010). O mercado farmacêutico dispõe de medicamentos amplamente utilizados que são oriundos de espécies naturais, como: pilocarpina, digitalina, atropina, captopril, escopolamina, morfina, dentre outros (CALIXTO et al., 2001). As atividades biológicas advindas das plantas estão relacionadas as substâncias químicas presentes. Os alcalóides, que são compostos nitrogenados, terpenóides, saponinas, flavonóides, entre outros. (SAXENA, 1989; MAIA E MOORE, 2011).

De acordo com Santos et al. (2011), o conhecimento perpassado através das gerações humanas é uma fonte importante para a descoberta de novas substâncias bioativas visto que, as plantas medicinais são utilizadas desde os primórdios da civilização com as mais diversas finalidades, incluindo a prevenção e o tratamento das mais diversas doenças.

O uso das plantas vem crescendo em todo mundo pois além de seu poder curativo e preventivo, possui um custo mais acessível quando em comparação aos medicamentos alopáticos (MENDES et al, 2018). Lara e colaboradores (2019) descreveram em seu estudo sobre a utilização de plantas medicinais em um estado brasileiro, relatando que durante a fala dos pacientes entrevistados não foi citado a

orientação por parte de algum profissional de saúde para o uso das plantas, inclusive entre os cadastrados nas estratégias de saúde da família.

Sabe-se que, a utilização inadequada dos fitoterápicos (ou até mesmo da droga vegetal), pode desencadear graves distúrbios em pacientes com fatores de risco preexistentes (MAIA et al., 2011). Reis e Mudrik (2016) ressaltam a elevação do perigo de ocorrência de efeitos indesejados relacionado ao uso das plantas, devido ao fácil cultivo. Podendo haver plantações inadequadas ou uso de espécie incorretas, por erro de identificação e uso irracional.

Dados da OMS apontam que nos países considerados em desenvolvimento, cerca de 65 a 80% da população depende de tratamentos, no âmbito primário da saúde, através de plantas medicinais, em alguns casos, como único método terapêutico. Isto ocorre, devido à dificuldade de acesso aos medicamentos e à baixa renda familiar. Muito embora, em países desenvolvidos como Alemanha, França, Itália e Estados Unidos, a terapêutica utilizando plantas medicinais são bastante populares (CALIXTO, 2000; SARAIVA, et al 2015).

Oliveira et al. (2012) corrobora a prevalência da utilização de plantas medicinais como prática integrativa complementar (PIC) com dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) que indicam que, no mundo, 80% da população faz uso de planta medicinal para alívio de algum sintoma. Esse alto índice ocorre também pela facilidade de acesso as espécies, podendo ser cultivada nas residências, além do baixo custo e, erroneamente, consideradas inofensivas pela maioria da população (FONTANELA et al., 2007).

No Sistema Único de Saúde (SUS), foi publicada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e, após as plantas medicinais, os fitoterápicos além de outros tratamentos como a medicina tradicional chinesa (acupuntura) e a homeopatia foram institucionalizadas. A OMS descreve a Medicina Alternativa Complementar e a Medicina Tradicional como práticas que utilizam, além de terapias manuais e espirituais, tratamentos baseados em plantas (ervas), minerais ou parte de animais (LEAL, et al. 2008).

No Brasil, as pesquisas afirmam a utilização de plantas nas mais diversas regiões e biomas. Populações que vivem na caatinga, por exemplo, em sua grande parte dependem diretamente dos recursos naturais advindos deste bioma para sua sobrevivência. Isto se dá principalmente, devido ao baixa arrecadação financeira

dessas pessoas que impossibilita o acesso a diversos medicamentos, tornando então a planta, o meio encontrado para tratamento das doenças (SILVA et al, 2015).

Os estudos etnofarmacológicos contribuem direta e significativamente para o estudo de desenvolvimento de novos medicamentos com plantas originárias da caatinga, tendo uma das suas principais espécies, o mandacaru. (ALBERGARIA, SILVA E SILVA, 2019)

2.5 *Cereus jamacaru* DC

Estima-se que o Brasil detém cerca de 15 a 20% da biodiversidade mundial (BRASIL, 2006) e a utilização das plantas medicinais vem crescendo nos últimos anos (LOURENZANI et al., 2004). Na região semi-árida do Nordeste, a caatinga é a vegetação predominante possuindo uma grande resistência aos períodos de seca e apresentando uma elevada heterogeneidade de espécies.

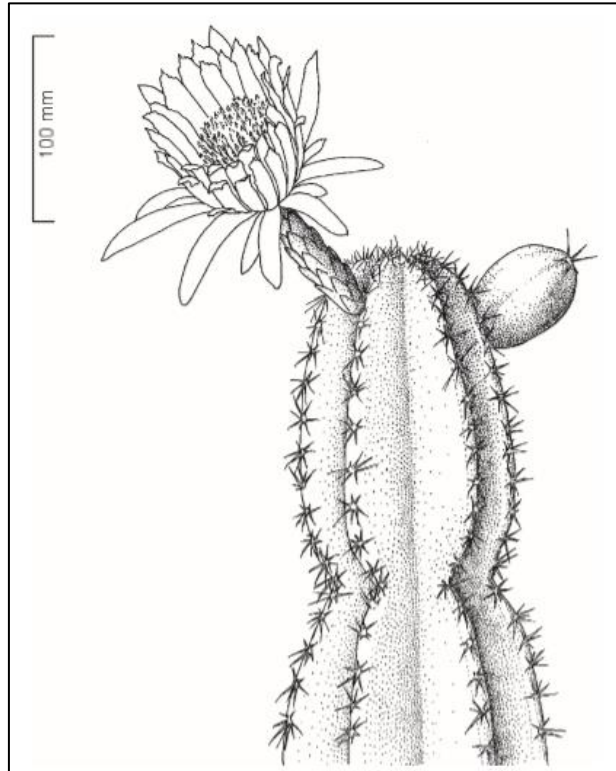
Uma das famílias predominantes da região nordeste é a Cactaceae, composta por cerca de 125 gêneros e 2.000 espécies, presente nas regiões mais quentes e secas do chamado Novo Mundo. O Brasil está entre os países que possuem a maior diversidade de plantas desta família, totalizando 35 gêneros e 237 espécies nativas, em sua maioria endêmicas e encontradas na caatinga nordestina (TAYLOR; ZAPPI, 2004; ORTEGA-BAES et al., 2006). A Cactaceae é um grupo importante nesta vegetação, das quais destaca a espécie *C. jamacaru* DC, popularmente conhecida como mandacaru (LIMA, 1989).

Trata-se de um arbusto cuja altura varia entre 3 a 8 metros, com caule multiarticulado em ramificações candelabriformes de cor verde, recoberto por espinhos nos vértices (Figura 2). As flores nascem solitárias e tem tamanho variante entre 12 a 15 cm de comprimento com coloração branca ou amarela e suas pétalas se abrem no período noturno. Já os frutos, são carnosos medindo cerca de 10 a 12 cm, polpa branca e casca na cor vermelho-lilás (BRITO et al., 2007; LORENZI; MATOS, 2002).

O mandacaru se distribui nos mais diferentes tipos de solo, brotando também entre rochas. É possível encontrá-lo em abundância por toda caatinga do nordeste brasileiro, pois possui um mecanismo de adaptação fisiológica denominado metabolismo ácido das crassuláceas (CAM). Este processo otimiza a eficiência da

utilização da água permitindo assim que ela sobreviva em locais em que o déficit de água seja alto, sem comprometer de forma significativa a sua fotossíntese (HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ et al., 2007).

Figura 2 – Representação da espécie *C. jamacaru* (Mandacaru).



Fonte: Klein (1999).

Silva et al. (2005) descrevem que as cactáceas, em conjunto com algumas outras alternativas, são utilizadas durante os períodos de secas prolongadas como um suporte alimentar para ruminantes. Lima (1998) também as ressalta como fonte alimentar e de água para os animais e cita *C. jamacaru* como uma xerófila utilizada também como ornamentação, além de possuir frutos que são atrativos em cor e sabor, também consumidos pela população sob forma *in natura*.

No estudo realizado por Cavalcanti e Resende (2004), no qual foi avaliada a utilização das plantas nativas da caatinga por pequenos agropecuaristas em cinco comunidades baianas e pernambucadas, detectou-se que 46,52% destas comunidades utilizam o mandacaru com alguma finalidade (alimentar, terapêutica, decorativa ou fabricação de utensílios).

Meiado et al. (2010), em estudo fitoquímico, identificaram a presença de nitrato de sódio, diversas fibras, β -sitosterol, tiramina, N-metilamida (ambas consideradas por Davet et al. (2009) como marcadores da espécie) e horderina (composto resultante da metilação da tiramina) no caule e nas raízes. Ainda no caule e também nas folhas, há presença de ácido oleico e linoleico, que são ácidos graxos insaturados e o palmítico, cítrico, ascórbico, esteárico, betalaína e indicaxantina, classificados como ácidos graxos saturados.

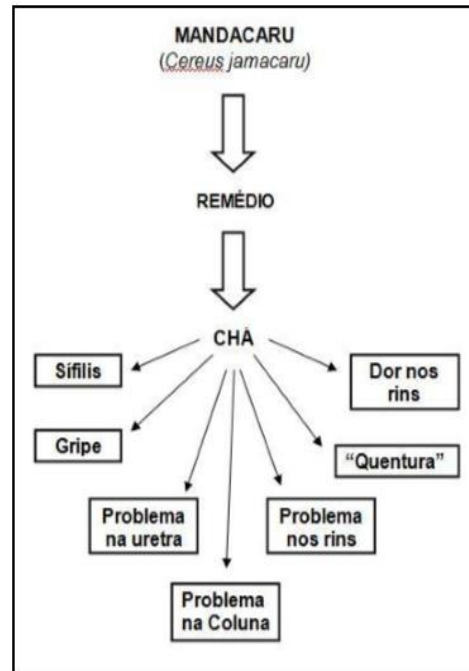
Estudos etnobotânicos têm progredido no sentido de maior identificação das espécies da caatinga para fins medicinais. Entre eles, detectaram que a *C. jamacaru* é utilizada na forma de decocto, infuso ou sumo para tratamento de cólica intestinal, má digestão, úlcera, gastrite, vômitos e diarréias. Além de inflamações da boca, processos inflamatórios e nascimento dos dentes (RIBEIRO et al., 2014).

Paulino et al. (2011) identificaram a utilização da raiz de *C. jamacaru* como diurético e no tratamento de problemas renais, a partir da ingestão do chá, durante os períodos de manifestações dos sintomas, em substituição da ingestão de água até que desapareçam. Além disto, o caule também é utilizado, porém com ações anticonstipante, antihipertensiva, antireumática e antiemética (Figura 3).

Ainda relacionado a estudos etnofarmacológicos, Guedes et al. (2009) identificaram o uso do caule de *C. jamacaru* para controle de diabetes, tosse, bronquite, albuminúria e problemas vesiculares. Enquanto o fruto, consumido em sua forma natural, é utilizado no tratamento das úlceras e escorbuto; e as cascas do caule, de acordo com Albuquerque et al. (2002), na redução das taxas do colesterol e problemas renais.

Além disto, estudos farmacológicos apontam atividade antinociceptiva e anti-inflamatória nas raízes de *C. jamacaru*. Nos cladódios da mesma espécie foram identificadas atividades antioxidantes e possíveis atividades relacionadas ao SNC devido alterações no comportamento de ratos submetidos ao teste de campo aberto (MEDEIROS, 2011; SANTANA, 2016). Silva e colaboradores (2017) identificou um potencial antimicrobiano significativo, sugerindo que a espécie seja estudada para o desenvolvimento de novos fitoterápicos.

Figura 3 – Uso popular de *C. jamacaru* para fins medicinais.



Fonte: Medeiros (2011); adaptado de Andrade et al. (2006).

É possível observar, portanto, a importância e o crescimento das pesquisas baseadas no conhecimento popular, evidenciada por exemplo com a espécie *C. jamacaru*, avaliando o uso, eficácia e segurança para fins medicinais.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar as atividades antinociceptiva e anti-inflamatória dos extratos aquoso e etanólico brutos obtidos de *C. jamacaru* (mandacaru).

3.2 Objetivos específicos

- Obter os extratos aquoso (EABCJ) e etanólico (EEBCJ) brutos de *C. jamacaru* (mandacaru), bem como da planta liofilizada; (EEBCJ-L);
- Realizar identificação fitoquímica dos EABCJ, EEBCJ;
- Avaliar a viabilidade celular dos EABCJ, EEBCJ e EEBCJ-L no ensaio de MTT;

- Avaliar a toxicidade aguda *in vivo* dos EABCJ e EEBCJ;
- Avaliar a atividade antinociceptiva periférica dos EABCJ e EEBCJ (v.o.) nos modelos de contorção abdominal induzida por ácido acético e nocicepção induzida por formalina;
- Avaliar a atividade antinociceptiva central dos EABCJ e EEBCJ (v.o.) nos modelos de nocicepção induzida por glutamato e por placa quente (*hot plate*);
- Avaliar a atividade anti-inflamatória dos EABCJ e EEBCJ (v.o.) no modelo de peritonite induzida por zymosan;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória dos EABCJ e EEBCJ (v.o.) no modelo de artrite induzida por adjuvante completo de Freund;
- Avaliar a performance motora dos animais pós-tratamento com EABCJ e EEBCJ no modelo de barra giratória.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Reagentes, soluções e fármacos

Para obtenção dos extratos etanólicos, foi utilizado etanol P.A. (Sigma-Aldrich). No ensaio de viabilidade celular, foram utilizados [3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] (MTT, Sigma-Aldrich), *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI, Sigma-Aldrich) suplementado com 10% de soro fetal bovino (CUTILAB) e aminoácidos não essenciais de piruvato (Sigma-Aldrich) e de glutamina (Sigma-Aldrich), além do veículo dimetilsufóxido (DMSO 0,1%, Sigma-Aldrich) e Triton™ X-100 para controle negativo.

Na realização dos ensaios *in vivo* foram utilizados como agentes flogísticos: ácido acético (Sigma-Aldrich), formol (Sigma-Aldrich, diluído em salina na concentração final de 2,5%), ácido glutâmico (Sigma-Aldrich), zymosan (Sigma-Aldrich), e adjuvante completo de Freund (Sigma-Aldrich). Como fármacos padrões, foram utilizados: dipirona (DIP, Gemini), indometacina (IND, Henrifarma), dexametasona (DEXA, Fagron), morfina (MOR, Dimorf ®, Cristália) e diazepam (DZP, Compaz ®, Cristália). Os padrões e os extratos foram diluídos em solução fisiológica (NaCl, 0,9%), além do monoleato polioxietilenossorbitano (Tween 80 ®, Sigma-Aldrich, 0,01% (v/v)) para emulsificação do EEBCJ-L.

4.2 Coleta e preparação dos extratos

As amostras da espécie *C. jamacaru* (Figura 4) foram coletadas na cidade de Cachoeirinha, Estado de Pernambuco, localizada a 175 Km da capital Recife, à latitude: 08° 29' 11" S e longitude: 36° 13' 59" W e levadas para identificação por bióloga especialista da UFAL.

O material foi conduzido ao Laboratório de Farmacologia e Imunidade (LaFI/ICBS/UFAL) para limpeza e retirada dos espinhos. Posteriormente, foi pesado e secado em estufa de ar circulante, com temperatura controlada de 50°C.

Em seguida, para obtenção do extrato aquoso bruto de *C. jamacaru* (EABCJ), o cladódio foi fracionado e submetido ao processo de turbólise em uma proporção de 20 g de planta para 100 mL de água mineral. Em seguida, filtrou-se em papel filtro para posterior armazenamento em vidro âmbar no congelador.

Figura 4 – *C. jamacaru* (mandacaru).



Fonte: Autor (2018)

Para obtenção do extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* (EEBCJ), a planta foi fracionada (Figura 5) e submetida a um processo de secagem em temperatura

ambiente por 10 dias para retirada total da água. Procedeu-se à maceração por 7 dias, com agitação leve, 2 vezes ao dia, numa proporção de 10 g de planta para 100 mL de etanol (96%). Já para obtenção do extrato etanólico da planta liofilizada, a planta foi congelada, logo após a coleta, e levada ao liofilizador. Após este processo, foi triturada para formação do pó e macerada por 7 dias, com agitação 2 vezes ao dia, na proporção de 10 g de planta para 100 mL de etanol absoluto.

Figura 5 – Material vegetal fracionado.



Fonte: Autor (2018)

Figura 6 – Filtração do extrato.



Fonte: Autor (2018)

Os materiais de ambos os extratos etanólicos foram filtrados (Figura 6) separadamente, e posteriormente rotaevaporados, sob pressão parcial reduzida, a

uma temperatura de 50°C para remoção do solvente. Os resíduos foram depositados em cadinhos de cerâmica e inseridos no dessecador com base de sílica até remoção total do solvente.

4.3 Avaliação fitoquímica

A avaliação fitoquímica dos EEBCJ e EABCJ foi realizada pelo Professor Carlos Eduardo Miranda e a aluna Lívia, no laboratório XXX do Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), localizado na cidade de Caruaru, Pernambuco.

4.3.1 Alcaloides

Foram adicionados 2 mL de solução de ácido clorídrico (HCL) a 1g de EEBCJ (diluído em 2 mL de metanol) e a mistura aquecida por 10 minutos. Após resfriamento, a solução foi filtrada e dividida em três tubos de ensaio. Seguiu-se com a adição de gotas de reativo de reconhecimento Dragendorff nos tubos, havendo precipitado, confirma-se a presença de alcaloide no extrato (BARBOSA et al., 2004). O EABCJ foi submetido a este mesmo processo.

4.3.2 Taninos

Um grama de EEBCJ foi diluído em 2 mL de metanol e posteriormente adicionados 5 mL de água destilada. Após filtração, foram adicionadas 5 gotas de solução de cloreto férrico a 10%. A formação de coloração azul, é o fator determinante da presença de taninos hidrolisáveis e coloração verde, taninos condensados (BARBOSA et al., 2004). O EABCJ foi submetido a este mesmo processo.

4.3.3 Flavonoides

Foi realizada uma diluição de 1 g de EEBCJ em 2 mL de solução metanólica e posteriormente adicionadas quatro fragmentos de fitas de magnésio nas soluções. Posteriormente, inserido ácido clorídrico concentrado. A mudança de cor da solução

para vermelho ou castanho, implicará na existência de flavonoide neste extrato. (BARBOSA et al., 2004). O EABCJ foi submetido a este mesmo processo.

4.3.4 Saponinas

Realizou-se a adição de 1 g de EEBCJ a 2 mL de metanol e foi acrescentado 5 mL de água fervente. Após resfriamento, a solução passou por agitação e após, foi mantido em repouso por 20 minutos. A formação de espuma ao final deste processo, indica presença de saponinas no extrato (BARBOSA et al., 2004). O EABCJ foi submetido a este mesmo processo.

4.3.5 Antraquinonas

Foi adicionado 1 g de EEBCJ a 2 mL de metanol. Esta solução foi filtrada e 2 mL de ácido sulfúrico misturado a essa solução, esta que foi mantida em banho-maria por um minuto. Após isso, foi resfriada à temperatura ambiente, e realizou-se a extração em funil de separação com 10 mL de acetato de etila por duas vezes. O aparecimento da cor amarela é indicativo da presença de antraquinona de forma reduzida e a coloração vermelha, antraquinona oxidada (BARBOSA et al., 2004). O EABCJ foi submetido a este mesmo processo.

4.4 Ensaio Farmacológicos

Os ensaios farmacológicos foram realizados no Laboratório de Farmacologia e Imunidade (LaFI) localizado no Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

4.4.1 Animais

Foram utilizados camundongos *Swiss*, machos e fêmeas, 6 a 8 semanas, e pesos entre 25 g – 30 g fornecidos pelo Biotério Central da UFAL e mantidos no Biotério do LaFI localizado no ICBS - UFAL. Os animais foram mantidos a temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, num ciclo claro-escuro de 12/12 horas, iniciando o ciclo

claro às 7 horas e encerrando às 19 horas. Os animais foram acomodados em gaiolas de polipropileno, medindo 30 cm x 20 cm x 13 cm para camundongos, com grade aramada em aço inoxidável, com espaço para ração e encaixe para as mamadeiras de água e acopladas a microisolador com ventilação adequada. A utilização de animais nesta pesquisa foi autorizada pelo Comitê de Ética em Pesquisa de Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) através do parecer número 27/2018 (Anexo 1).

4.4.2 Ensaio de viabilidade celular – MTT

Em uma microplaca com 96 poços foram plaqueados macrófagos da linhagem J774.A1, numa densidade de 1×10^5 células por poço, cultivadas em 200 μ L de meio RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino e 200 mM de aminoácidos não essenciais, piruvato 100 mM e glutamina 200 mM. As células plaqueadas foram mantidas em estufa a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ com atmosfera de 5% de CO_2 , em *overnight* para melhor aderência antes do tratamento. As células foram tratadas com o EABCJ e EEBCJ nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, além do fármaco padrão (dipirona, concentrações de 100, 10, 1 e 0,1 $\mu\text{mol}/\text{mL}$) e demais controles (meio; dimetilsulfóxido – DMSO 0,1% – veículo; e TritonTM X-100). O TritonTM X-100 foi utilizado como padrão de morte celular, uma vez que o mesmo é capaz de promover a lise das células. Após o tratamento, as células foram mantidas sob as mesmas condições descritas anteriormente por um período de 24 h. Ao término do período de incubação, o sobrenadante foi descartado e adicionado a cada poço 100 μ L de solução MTT a 0,5 mg/mL e reincubadas por 1 h em estufa, novamente sob temperatura controlada ($37 \pm 1^\circ\text{C}$) e 5% de CO_2 , a fim de promover a reação de redução do MTT a Formazan. Após esse período, o sobrenadante foi desprezado e as células lisadas com 100 μ L de DMSO. Para a avaliação quantitativa do formazan, os poços foram analisados em um leitor de microplacas (TP-Reader – ThermoPlate) no comprimento de onda 530 nm.

4.4.3 Teste de toxicidade aguda *in vivo*

Os animais foram distribuídos em quatro grupos, no qual cada grupo foi composto por seis camundongos adultos e divididos em: Grupo 1 - controle negativo, Grupo 2 - EABCJ, Grupo 3- EEBCJ e Grupo 4 – EEBCJ-L. Os animais dos grupos 2, 3 e 4 foram tratados com os respectivos extratos na dose de 2000 mg/kg por via oral. Caso fossem observados sinais de toxicidade, a dose seria reduzida para 300 mg/kg, 50 mg/kg e assim sucessivamente até a dose mínima limite de 5 mg/kg.

A observação dos animais ocorreu por dois momentos ao dia, durante um total de 14 dias após a administração dos extratos. Os parâmetros observados como indicativo de toxicidade foram: contorções abdominais, piloereção, ptose palpebral, hipotermia, tônus muscular, tremores, salivação, cromadocriorréia, secreção brônquica, convulsões, outras manifestações e morte. Ao final dos testes, os animais foram anestesiados com tiopental sódico na dose de 50 mg/kg e o cérebro, coração, rins, pulmão, fígado, baço e estômago foram coletados para análise macroscópica (OECD, 2001).

Além disto, foi realizado também o controle de ingestão de água e ração para identificar possíveis alterações quanto ao consumo. A ração foi ofertada em uma proporção de 6 g por animal ao dia e todos os dias, ao mesmo horário, foi pesada e repostada. A água foi controlada com uma proporção de 50 mL por animal ao dia, e também registrada diariamente e repostada.

4.4.4 Avaliação da atividade antinociceptiva

4.4.4.1 Ensaio de contorção abdominal induzida por ácido acético

Os animais foram distribuídos em oito grupos (n = 6, cada): controle negativo (solução salina, na dose de 10 mL/kg, v.o.); controle positivo (dipirona, na dose de 40 mg/kg, v.o.); EABCJ e EEBCJ, ambos nas doses de 100, 150 e 300 mg/Kg (v.o.) visto que esse modelo experimental foi usado como triagem para determinar a concentração inibitória 50 (CI50), a fim de dar continuidade aos demais testes com as doses que apresentaram melhor dose-resposta.

O ensaio consistiu na administração dos extratos e controles, de modo que somente após quarenta minutos, o ácido acético (0,6%, via intraperitoneal, i.p., na

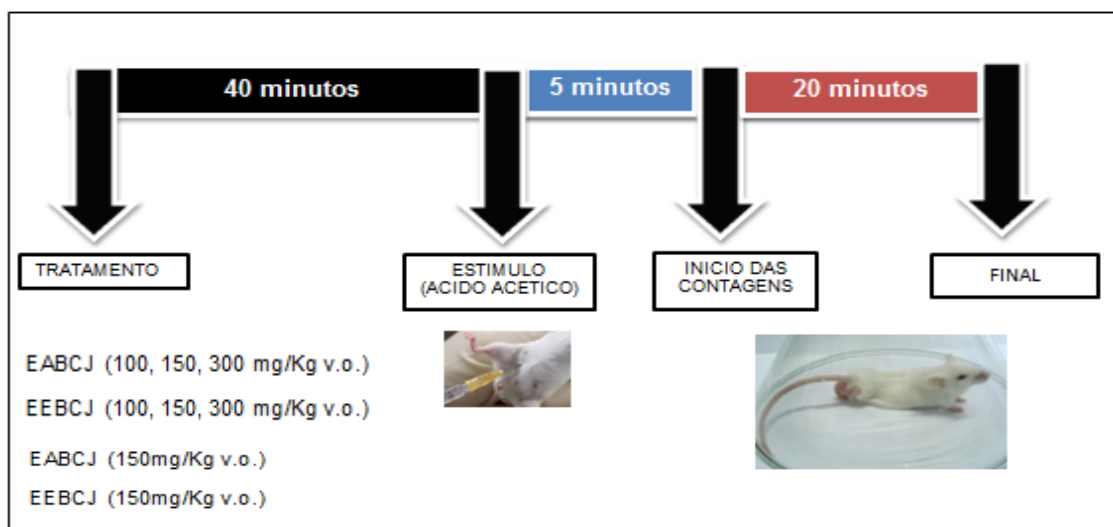
dose de 0,1 mL/10 g) foi administrado. Logo após, os animais foram individualmente colocados em béqueres de vidro transparente, higienizados com álcool 70%, para observação das contorções abdominais (Figura 7) e quantificadas cinco minutos após a administração do ácido acético, por um período total de 20 minutos, conforme demonstrado na Figura 8 (COLLIER et al., 1968).

Figura 7 – Contorção abdominal induzida pelo ácido acético.



Fonte: Autor (2019).

Figura 8 – Esquema do ensaio de contorção abdominal induzida por ácido acético



Fonte: Autor (2019).

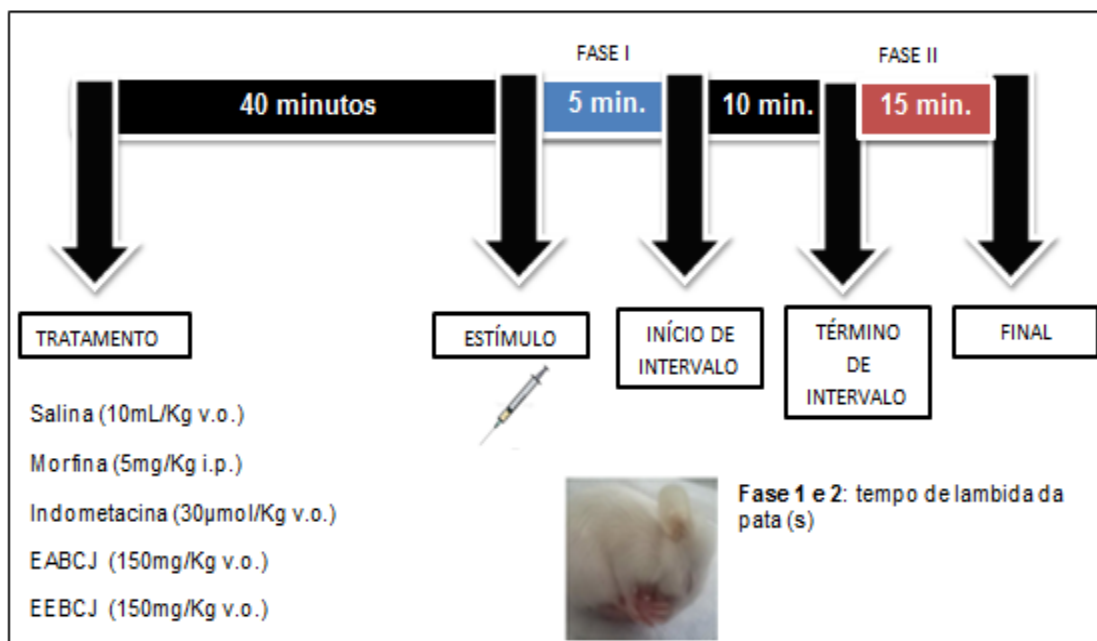
4.4.4.2 Ensaio de nociceção induzida por formalina

Os animais foram separados em grupos (n = 6, cada): controle negativo (salina, 10 mL/Kg, v.o.); controle positivo (morfina, na dose de 5 mg/kg, i.p.); EEBCJ e EABCJ (ambos na dose de 150 mg/kg, v.o.).

O experimento seguiu com a administração dos extratos e controles positivo e negativo. Após quarenta minutos foi realizada a administração de 20 µL de formalina 2,5% (via subplantar, s.p.) na face dorsal da pata traseira direita do animal que foi imediatamente transferido para um béquer, individual, a partir do qual foi cronometrado o tempo em que o animal permaneceu lambendo a pata, sendo esta ação, o critério indicativo de nociceção.

A medição do tempo de permanência de lambida na pata traseira direita foi registrada em dois períodos: 1ª fase: 0-5 minutos, aguardou-se um tempo de dez minutos sem a realização da contagem e iniciou novamente a medição; enquanto a 2ª fase, referente ao tempo entre 15-30 minutos. A primeira fase está relacionada à dor neurogênica e a segunda fase à dor inflamatória – Figura 9 (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

Figura 9 – Esquema do ensaio de nociceção induzida por formalina.

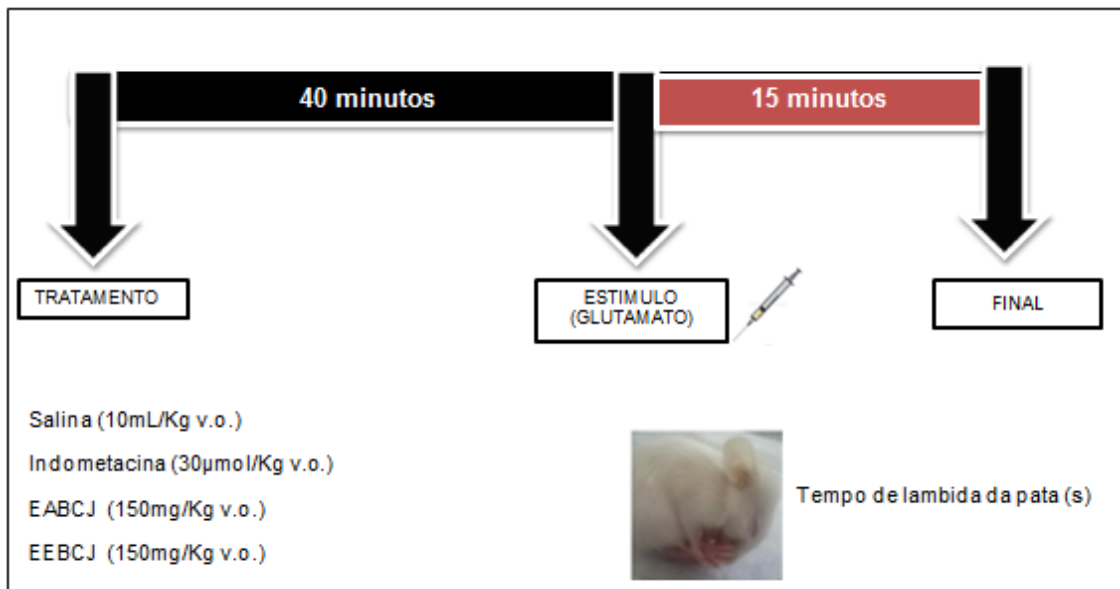


Fonte: Autor (2019).

4.4.4.3 Ensaio de nociceção induzida por glutamato

Os controles negativo (salina, 10 mL/kg, v.o.) e positivo (morfina 5 mg/kg, i.p) e os extratos nas doses de 150 mg/kg (v.o.) foram administrados e após quarenta minutos, 20 μ L de glutamato (30 μ mol/pata) foram administrados (s.p.) na face dorsal da pata traseira direita do animal. O tempo em que os animais permaneceram lambendo a pata foi cronometrado durante 15 minutos logo após a administração do glutamato, sendo este o tempo considerado como indicativo de dor – Figura 10 (BEIRITH; SANTOS; CALIXTO, 2002).

Figura 10 – Esquema do ensaio de nociceção induzida por glutamato.



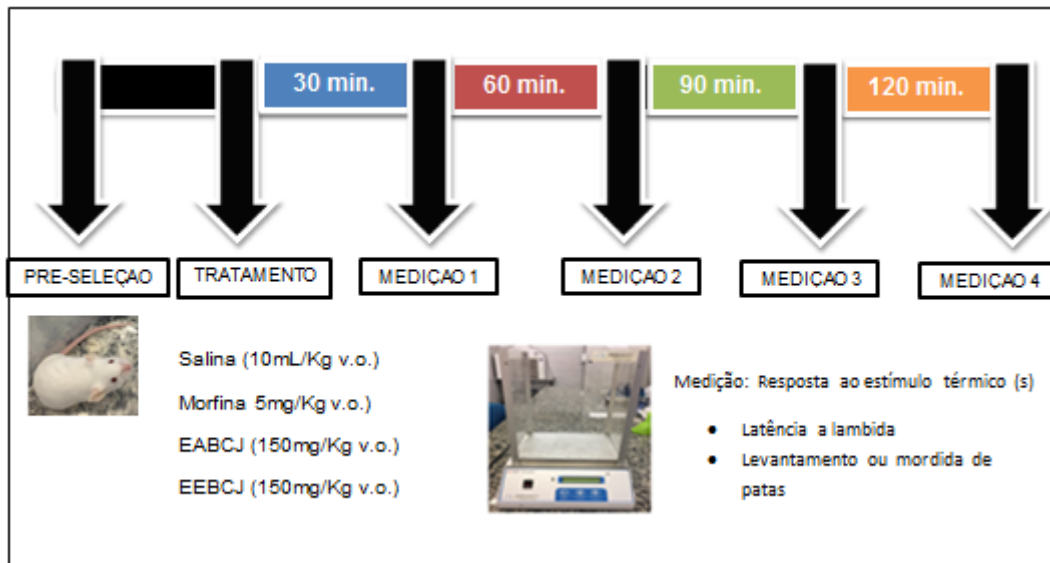
Fonte: Autor (2019).

4.4.4.4 Ensaio da placa quente

Este teste foi realizado conforme mostra a Figura 11. Inicialmente, os animais passaram por um processo de pré-seleção para identificação dos animais que possivelmente apresentassem um limiar de tolerância à dor abaixo ou superior aos demais, sendo determinado o tempo de *cut-off* de 15 segundos. Foram registradas duas medidas controles com intervalos de 30 minutos entre elas. Seguidamente, foram administrados os extratos e os padrões negativos e positivos e após quarenta minutos os animais foram transferidos individualmente para o aparelho de *hot plate*.

A placa foi aquecida a $54^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e se registrou o tempo (em segundos) em que o animal permaneceu com as patas sobre a placa aquecida sem reflexo de retirada. Um total de 4 medidas foram registradas: 30, 60, 90 e 120 minutos a partir da administração dos tratamentos (KURAIHI et al., 1983).

Figura 11 – Esquema do ensaio de placa quente.



Fonte: Autor (2019).

4.4.5 Avaliação da atividade anti-inflamatória

4.4.5.1 Ensaio de peritonite induzida por zymosan A

Este ensaio avaliou o potencial anti-inflamatório agudo e seus resultados foram utilizados como triagem para determinação da melhor dose-resposta. Os animais foram distribuídos em oito grupos ($n = 6$, cada): controle negativo (solução salina, 10 mL/kg, v.o.); controle positivo (indometacina, 10 mg/kg, v.o.); e EABCJ e EEBCJ (ambos nas doses: 100, 150 e 300 mg/kg, v.o.).

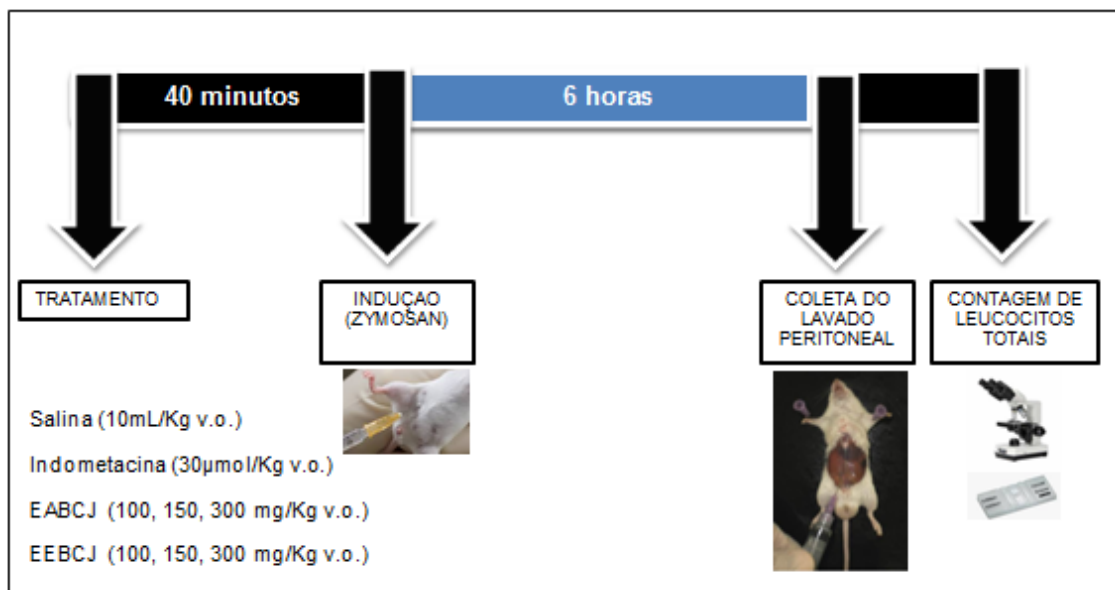
Foi realizada a administração dos extratos e dos controles negativo e positivos e após quarenta minutos, 250 μL de zymosan A (10 mg/mL) foram administrados na cavidade peritoneal dos animais. Após seis horas, o animal foi eutanasiado e o lavado peritoneal coletado com auxílio de seringa estéril de 3 mL.

Para coleta, foram administrados 3 mL de solução PBS (tampão fosfato salina) na cavidade peritoneal, massageada por 10 segundos e em seguida, coletou-se 1mL deste lavado.

Com o lavado peritoneal foi realizada a contagem dos leucócitos totais presentes no exsudato. Um volume de 10 µL do fluido de cada animal foi diluído e homogeneizado em 190 µL de azul de Tripán, obtendo a diluição de 1:20. A partir desta solução, 10 µL foram retirados e transferidos para câmara de Neubauer, a qual foi observado no microscópio óptico para contagem dos quadrantes (Figura 12), em lente objetiva de 40x, cujos resultados foram obtidos através da fórmula abaixo: (FERRÁNDIZ & ALCARAZ, 1991).

$$\text{N}^\circ \text{ de células/mL} = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de células}}{\text{n}^\circ \text{ de quadrantes contados}} \times \text{fator de diluição} \times 10.000$$

Figura 12 – Esquema do ensaio de peritonite induzida por Zymosan.



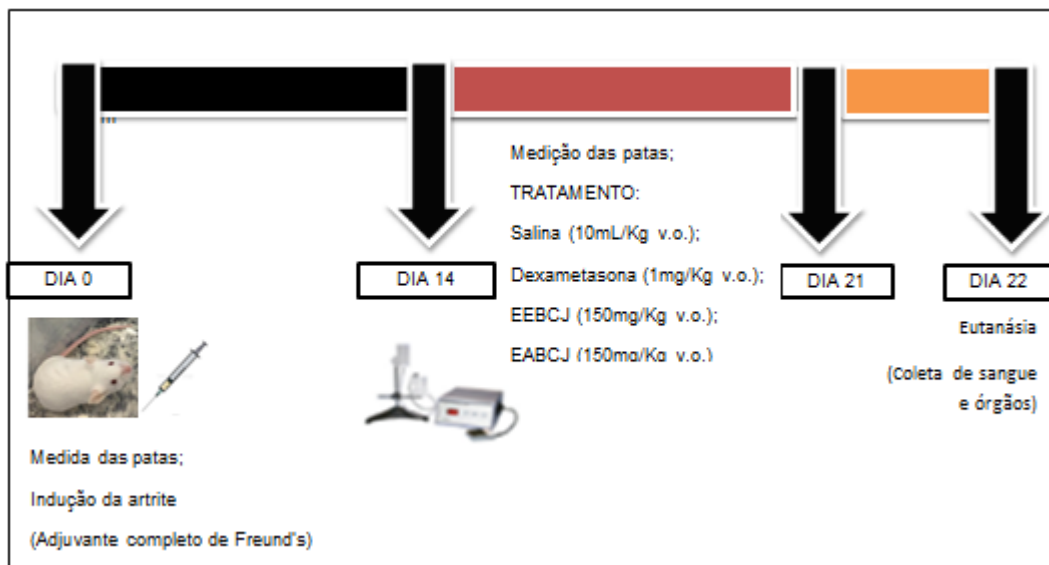
Fonte: Autor (2019).

4.4.5.2 Ensaio de indução de artrite experimental com adjuvante completo de Freund

Este ensaio consistiu na administração de 20 µL de adjuvante completo de Freund (mistura viscosa sem cor constituída de 85% de óleo mineral, 15% de emulsificante com 500 µg de *Mycobacterium tuberculosis* inativada por mililitro de

emulsão - 1 mg/mL) por via intradérmica na face dorsal da pata do camundongo. O tempo total de experimento foi de 21 dias, no qual os animais foram pesados, separados em grupos ($n = 6$), e suas patas foram medidas a partir do aparelho pletismômetro (Panlab, Harvard Apparatus) e realizada a indução de artrite no dia 0. A partir do 14º dia, os animais foram tratados com solução salina (controle negativo, 10mL/kg, v.o.); dexametasona (controle positivo, 1 mg/kg, v.o.); e os extratos na dose de 150 mg/kg (v.o.) e foram mantidos até o 21º dia, de modo que diariamente as patas foram medidas no pletismômetro, esquematizados na Figura 13. No 22º dia, os animais foram eutanasiados e realizada coleta de sangue e órgãos (WINTER; RISLEY; NUSS, 1962).

Figura 13 – Esquema do ensaio de indução da síndrome de artrite experimental com adjuvante completo de Freund.



Fonte: Autor (2019).

4.4.6 Avaliação de performance motora

4.4.6.1 Ensaio da barra giratória

O teste se iniciou a partir da pré-seleção de animais em duas sessões de treino (24 e 48 horas antes do ensaio – Apêndices 1 e 2), baseando-se em sua capacidade de permanecer em uma barra anti-derrapante, com 3 cm de diâmetro e 50 cm de comprimento, girando a 16 rpm, a uma altura de 25 cm, durante 4 minutos.

Essa pré-seleção teve como objetivo, a identificação prévia de algum animal que possivelmente apresentasse alguma alteração pré-existente que modificasse sua mobilidade, sendo assim, retirado do teste.

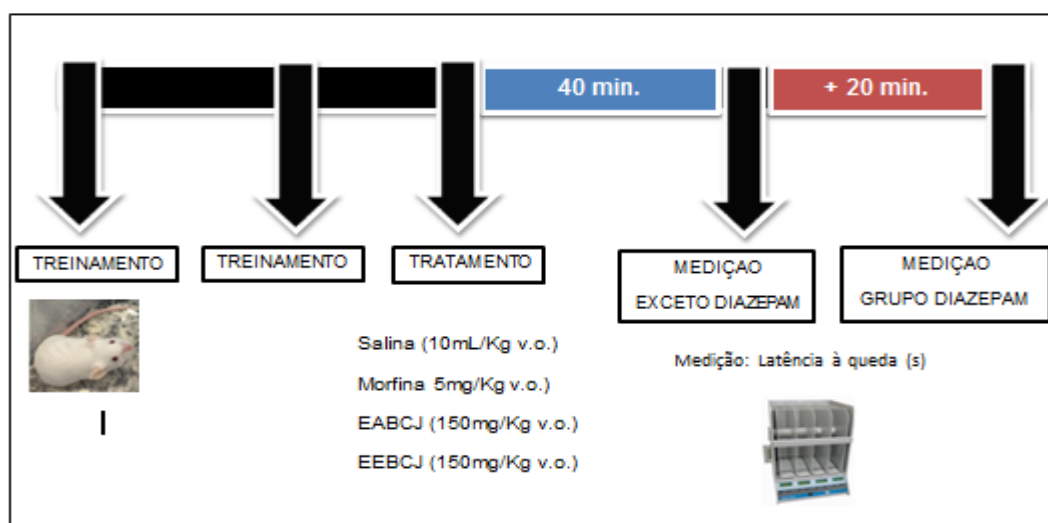
No 3º dia, os animais pré-selecionados, separados em grupos (n = 6, cada), foram então tratados com os extratos (EABCJ e EEBCJ ambos na dose de 150 mg/kg, v.o.), controle positivo (diazepam 1,5 mg/kg, i.p.) ou negativo (solução salina 10 mL/kg, v.o.). Após a administração, aguardou-se sessenta minutos para o grupo controle positivo, para atingir o tempo de ação do diazepam e trinta para os demais grupos e então os animais foram colocados sobre a barra (Figura 14), individualmente, registrando-se o número de quedas e a latência à queda (em segundos) por um tempo máximo de 4 minutos – Figura 15 (DUNHAM; MIYA, 1957).

Figura 14 – Teste de barra giratória.



Fonte: Autor (2019).

Figura 15 – Esquema do teste de barra giratória.



Fonte: Autor (2019).

4.5 Análise estatística

As análises foram realizadas no software GraphPad Prism® versão 5 e os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (e.p.m.) e as diferenças estatísticas entre as médias dos grupos foram analisadas utilizando a Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de Dunnet. Os valores dos resultados serão considerados significativos quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento dos extratos

O extrato etanólico bruto da planta seca de *C. jamacaru* foi preparado numa proporção de 10% (10 g de planta para 100 mL de solvente) e foi utilizado um total de 60 g de planta. O peso final foi de 4,1399 g de extrato seco, equivalente a um rendimento total de 6,89%. O extrato etanólico bruto preparado com a planta liofilizada e triturada em pó, também na mesma proporção acima descrita, apresentou um peso final de 1,3551 g de extrato seco, tendo rendimento total de 2,25%. O extrato aquoso foi preparado com a planta *in natura*, por turbólise, extrato na proporção de 20 g de planta para 100 ml.

5.2 Avaliação fitoquímica

Tabela 1 – Resultados da identificação fitoquímica dos EEBCJ e EABCJ.

Fitoquímicos	EEBCJ		EABCJ	
	Ausência	Presença	Ausência	Presença
Alcaloides		X		X
Antraquinonas		X		X
Flavonoides		X		X
Taninos		X		X
Saponinas		X	X	

Fonte: Autor (2019).

A presença de alcalóides foi identificada através da formação do precipitado. Os taninos presentes são taninos condensados, não havendo percepção da presença de taninos hidrolisáveis. A coloração castanha como resultado do teste determinou a presença de flavonoides em ambos os extratos assim como a presença de antraquinonas em ambos, através da coloração amarela, identificando antraquinonas reduzidas. Somente no EEBCJ foi detectada a presença de saponinas, pela formação de espuma.

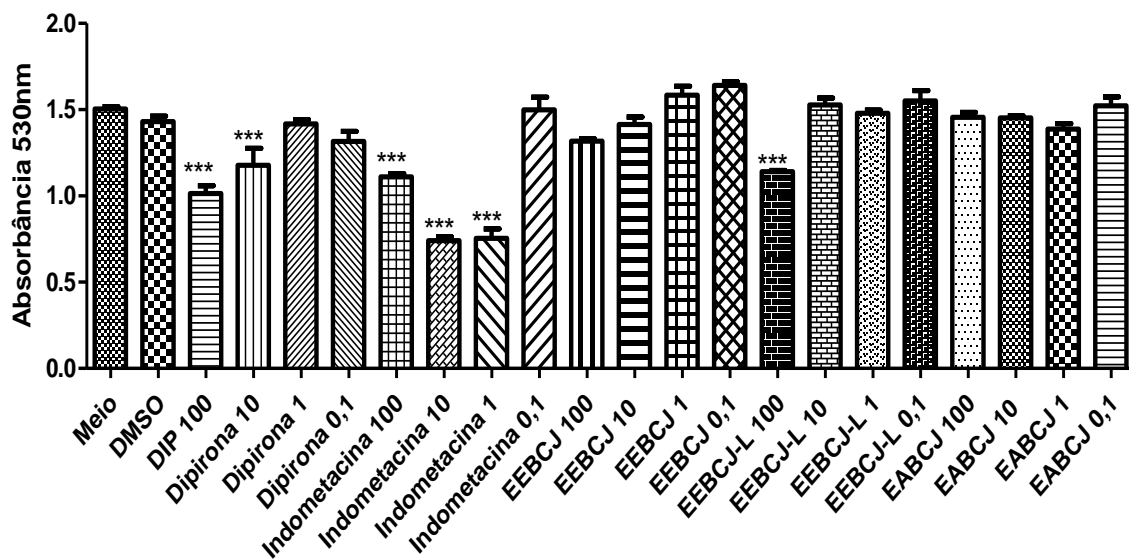
Esses resultados corroboram os estudos de Souza (2013) que detectou a presença de taninos condensados e compostos fenólicos nos extratos aquoso e metanólico da casca dos frutos do Manacaru (*Cereus fernambucenses*), espécie pertencente a mesma família de *C. jamacaru*. Além disto, os resultados também se assemelham a outros estudos dispostos na literatura que detectaram a presença de taninos, alcaloides, antraquinonas, fenol e flavonoides no cladódio de *C. jamacaru* (ZAPATA et al, 2003, DAVET, 2005, DAVET et al, 2009, MEDEIROS, 2011).

Gomes e colaboradores identificaram a presença de antraquinonas, fenóis, alcalóides e saponinas na espécie *Hanisia adscendens*, também pertencente a família Cactacea. Santana (2016) afirmou que algumas frações do extrato do mandacaru negativaram para a presença de alcaloides, por outro lado Brum (2011) alerta para a presença de baixas concentrações deste metabólito nessas frações impossibilitando a detecção pelo teste.

5.3 Ensaio de viabilidade celular – MTT

Com o objetivo de avaliar um possível efeito citotóxico indireto dos EEBCJ, EEBCJL e EABCJ foi utilizado o ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT. Trata-se de um ensaio colorimétrico que se baseia na capacidade da enzima desidrogenase mitocondrial presente nas células metabolicamente ativas, reduzir o sal de MTT, que se apresenta na cor amarela, em cristais de formazan, este de coloração púrpura – Figura 14 (GOMES et al., 2016; SOUZA et al., 2018).

Gráfico 1 - Efeito dos EEBCJ, EEBCJ-L, EEBCJ sobre a viabilidade de macrófagos da linhagem J774 no ensaio de MTT.



Fonte: Autor (2019).

Nota: controle (DMSO); dipirona (DIP, 100, 10,1 e 0,1 μ M.); indometacina (IND, 100, 10,1 e 0,1 μ M.); Extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* (EEBCJ), Extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* – liofilizada (EEBCJ-L) e Extrato aquoso bruto de *C. jamacaru* (EABCJ), ambos nas concentrações de 100, 10,1 e 0,1 μ M. As colunas e as barras verticais representam a média \pm e.p.m, respectivamente (n = 6). *p < 0,05; ***p < 0,001 comparado ao grupo veículo usando One-way ANOVA, seguido do teste de Dunnet.

Os ensaios com os macrófagos da linhagem J774 mostraram que a exposição das células aos EABCJ, EEBCJ e EEBCJ-L não alterou a viabilidade celular, com exceção para a concentração de 100 μ g/mL do extrato preparado com a planta após processo de liofilização. Pode-se verificar que a exposição as maiores concentrações favorece a redução da viabilidade, mas não de forma estatisticamente significativa – Gráfico 1.

Esta alteração observada nesta amostra preparada com a planta liofilizada pode ter se desencadeado, devido a não hidrólise de alguns compostos presentes na espécie, processo este impedido pela liofilização da planta *in natura* antes da preparação do extrato. Com a não ocorrência da hidrólise, por exemplo, alguns heterosídeos podem não ter sido quebrados e participarem dessa alteração observada. Diante destes resultados, comprova-se a viabilidade das células frente aos demais extratos, sugerindo sua inocuidade em animais de experimentação.

5.4 Modelos de experimentação *in vivo*

5.4.1 Teste de toxicidade aguda

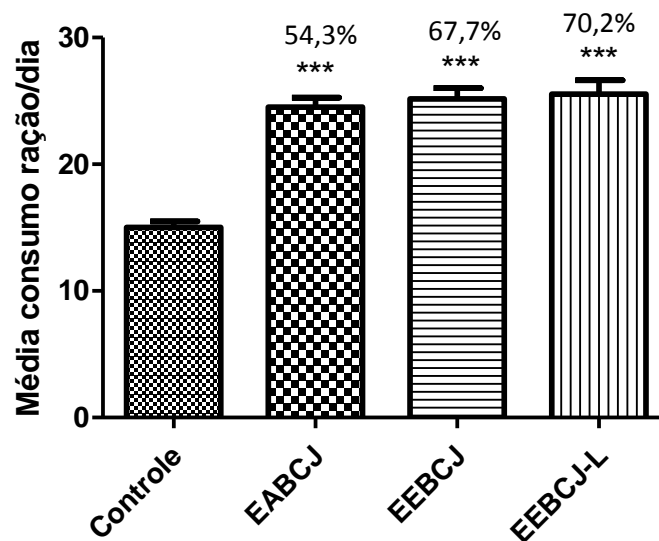
Esta análise teve intuito avaliar a toxicidade sistêmica aguda e classificar substâncias com base na sua segurança em animais, avaliando parâmetros como letalidade, identificação do potencial tóxico em órgão específicos, a toxicocinética e a relação dose-resposta (VALADARES, 2006).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA (2013), os ensaios de toxicidade aguda *in vivo* permitem inferir possível toxicidade desencadeada a partir da administração de substâncias teste, estas administradas em uma ou mais doses no animal e, em seguida, observações diárias por um período de 14 dias para detecção desses possíveis sinais de intoxicação.

Portanto, os animais foram expostos aos extratos por via oral, dose única e o ensaio de toxicidade foi realizado com base nas normas dispostas pela Organização para Cooperação de Desenvolvimento Econômico – Anexo 2 (OECD, 2001). Por se tratar de extrato, com espécie conhecida e descrita na literatura que é utilizada como alimento para animais, a dose inicial para o teste pode ser de 2000 mg/Kg.

Após administração e observação durante o período de 14 dias, nenhum animal foi a óbito e nenhum apresentou sinais de toxicidade como tremores, convulsões, sedação, ataxia, piloereção, cianose, cauda em *straub*, sendo possível inferir que as substâncias presentes no extrato não atravessam a barreira hematoencefálica ou não possuem ação central relevante. O gráfico 2 demonstra o consumo de ração dos camundongos *Swiss*, de ambos os sexos, tratados com os diferentes extratos de *C. jamacaru* na dose de 2000 mg/Kg em relação ao grupo controle. Houve uma diferença significativa ($p < 0,001$) quanto ao aumento do consumo de ração pelos grupos experimentais. O EABCJ aumentou em 54,3% o consumo de ração e os EEBCJ e EELCJ em 67,71% e 70,2% respectivamente. Este resultado contraria o estudo realizado por Medeiros (2011) no qual foi testado o extrato etanólico de *C. jamacaru* em ratos, de ambos os sexos e o resultado apresentou significância estatística para a diminuição de consumo de ração, e não para o aumento, como foi verificado neste estudo.

Gráfico 2 – Média do consumo de ração pelos camundongos Swiss tratados EEBCJ, EABCJ e EELCJ.



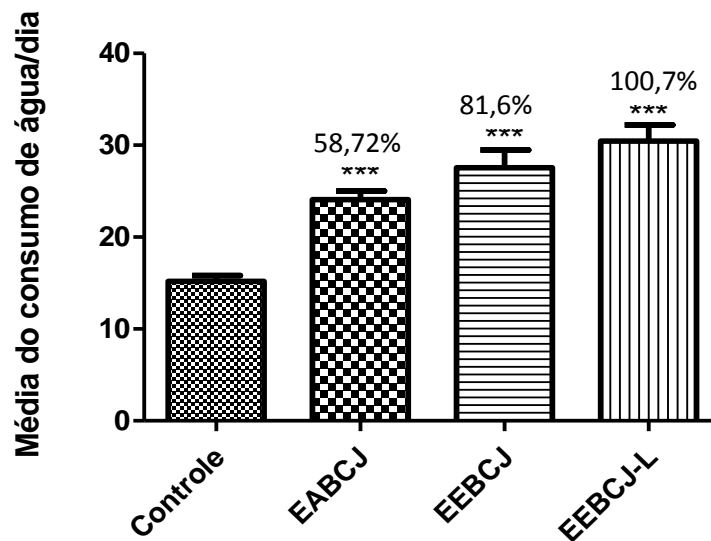
Fonte: Autor (2019).

Nota: controle (salina, 10 mg/kg, v.o.); Extrato aquoso bruto de *C. jamacaru* (EABCJ); Extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* (EEBCJ) e Extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* - liofilizada (EEBCJ-L), ambos nas doses de 2000 mg/kg, v.o. As colunas e as barras verticais representam a média \pm e.p.m, respectivamente (n = 6). *p < 0,05; ***p < 0,001 comparado ao grupo veículo usando One-way ANOVA, seguido do teste de Dunnet.

No resultado demonstrado no gráfico 3, os animais permaneceram sob as mesmas condições experimentais supracitadas. E assim como observado no consumo de ração, houve uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$) quanto ao aumento do consumo de água pelos grupos experimentais. Para o EABCJ o aumento observado foi de 58,72%, EEBCJ de 81,6% e para o EELCJ em 100,7%. Os resultados mostraram-se novamente controversos ao encontrado por Medeiros (2011).

Ressalta-se então, que o estudo citado foi realizado com modelos experimentais diferentes (ratos) e com doses de 210 mg/kg e 420 mg/kg e a avaliação foi realizada com administração diária do extrato por um período de 30 dias consecutivos.

Gráfico 3 – Média do consumo de água pelos camundongos Swiss tratados EEBCJ, EABCJ e EELCJ.



Fonte: Autor (2019).

Nota: controle (salina, 10 mg/kg, v.o.); Extrato aquoso bruto de *C. jamacaru* (EABCJ); Extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* (EEBCJ) e Extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* – liofilizado (EEBCJ-L), ambos nas doses de 2000 mg/kg, v.o. As colunas e as barras verticais representam a média \pm e.p.m, respectivamente (n = 6). *p < 0,05; ***p < 0,001 comparado ao grupo veículo usando One-way ANOVA, seguido do teste de Dunnet.

Neste caso, a substância é classificada como agente xenobiótico de classe 5, ou seja, pouco tóxica, pois a OECD (2001) preconiza que sejam considerados de baixa toxicidade os agentes que apresentem DL50 entre 2000-5000 mg/kg.

Baseado nos resultados dos testes de toxicidade *in vivo*, de viabilidade celular por ensaio de MTT e avaliando junto aos cálculos de rendimento dos extratos, foi determinado que os testes *in vivo* para avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória, fossem realizados com os EEBCJ e EABCJ, visto ter sido o EEBCJL o único a apresentar alteração estatisticamente significativa no ensaio de MTT e no ensaio *in vivo*, induzir o maior consumo de água e ração em comparação aos demais extratos testados. Além disso, seu rendimento foi menor em 67% que o EEBCJ, apresentando-se inviável para o escalonamento e acentuada dificuldade de solubilidade, como mostra a Figura 16.

Figura 16 – Solubilidade dos EEBCJ (à esquerda) e EEBCJ-L (à direita)



Fonte: Autor (2019).

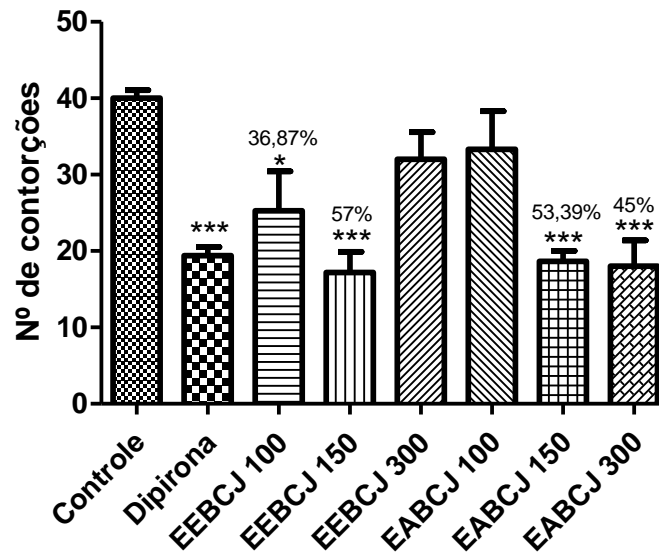
5.4.2 Avaliação da atividade antinociceptiva

5.4.2.1 Ensaio de contorção abdominal induzida por ácido acético

No gráfico 4 observa-se o efeito do EABCJ e EEBCJ em relação ao fármaco padrão dipirona (40 mg/kg, v.o.) no teste de contorção abdominal que avalia a atividade antinociceptiva dos extratos, que poderão atuar tanto em nível central como periférico. A administração de ácido acético produz uma resposta a partir da interação de diversos neurotransmissores e neuromoduladores.

O ácido acético age como estimulante na liberação dos mediadores hiperalgésicos e substâncias envolvidas na resposta da dor como as prostaglandinas, bradicinina, serotonina, histamina, que resulta em efeitos nociceptivos, agindo pela via de sensibilização nociceptiva periférica, provocando as contorções abdominais como resposta – Figura 16 (PERAZA, 2007; AZEVEDO, et al, 2016) resultando num aumento da síntese de cicloxigenases (COX), lipoxigenase (LOX) e prostaglandinas (PG's) (RADU et al., 2013).

Gráfico 4 – Efeito dos EEBCJ e EABCJ no ensaio de contorção abdominal induzida por ácido acético em camundongos Swiss.



Fonte: Autor (2019).

Nota: controle (salina, 10 mg/kg, v.o.); dipirona (DIP, 40 mg/kg, v.o.); Extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* (EEBCJ) e extrato aquoso bruto de *C. jamacaru* (EABCJ); ambos nas doses de 100, 150 e 300 mg/kg, v.o. As colunas e as barras verticais representam a média ± e.p.m, respectivamente (n = 6). *p < 0,05; ***p < 0,001 comparado ao grupo veículo usando One-way ANOVA, seguido do teste de Dunnet.

Portanto, foi possível observar uma redução estatisticamente significativa do número de contorções nos animais tratados com EEBCJ na dose de 100 mg/kg com percentual de 36,87% ($p < 0,05$) e 57% ($p < 0,001$) com 150 mg/kg. Em relação ao EABCJ as doses de 150 mg/kg e 300 mg/g apresentaram redução significativa de 53,39% e 45% ($p < 0,001$), respectivamente. A dipirona, fármaco padrão para este ensaio, inibiu estatisticamente, reduzindo em 51,5% ($p < 0,001$) o número de contorções. A dose de 300 mg/kg do EEBCJ reduziu apenas 20% das contorções e a dose de 100 mg/kg do EABCJ 16,67%, não apresentado significância estatística.

Na literatura, resultados de estudo com extrato bruto da raiz de *C. jamacaru* demonstraram atividade estatisticamente significativa na redução do número de contorções abdominais na dose de 50 mg/kg, induzindo um número maior de inibição quando comparada as doses de 100, 200 e 400 mg/kg e ao grupo controle (ANDRADE, 2013).

Este ensaio também foi utilizado como teste de triagem para determinação da dose a ser testada nos demais ensaios de nocicepção e, diante dos resultados, a dose determinada foi de 150 mg/kg do EEBCJ por apresentar o melhor resultado na análise estatística e também a dose de 150 mg/kg do EABCJ, pois apresentou um resultado significativo na análise estatística, assim como a de 300 mg/kg sem diferença estatística entre elas, logo, prosseguiu-se com administração da menor dose.

5.4.2.2 Ensaio de nocicepção induzida por formalina

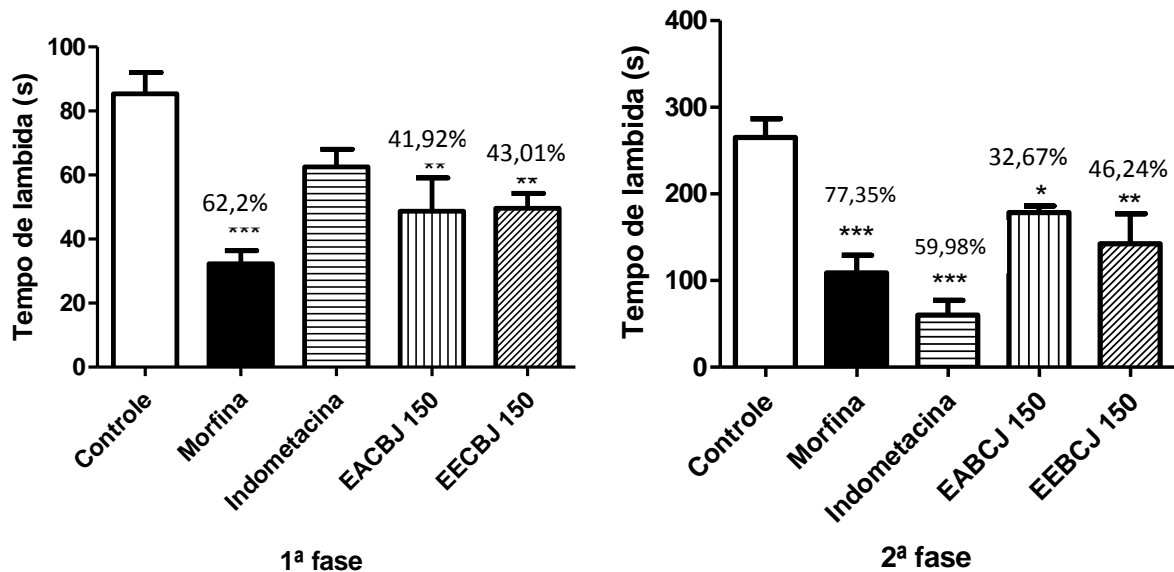
Neste ensaio, foi avaliado o tempo de lambida da pata dos animais em duas fases: neurogênica e inflamatória. Esses processos ocorreram a partir da administração de formalina (2,5%) na pata dos animais.

Na primeira fase do ensaio de nocicepção induzida por formalina, os grupos tratados com os EEBCJ e EABCJ reduziram significativamente ($p < 0,01$) o tempo de lambida em 41,92% (EABCJ) e de 43,01% (EEBCJ) em comparação ao controle. A morfina fármaco padrão utilizado no teste para esta fase reduziu em 62,2% ($p < 0,001$) o parâmetro avaliado, como mostra o gráfico 5.

Em relação à fase inflamatória do ensaio, o fármaco padrão utilizado (indometacina 30 mg/kg, v.o.) e a morfina induziram uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,001$) no tempo de lambida da pata pelos animais. Sendo 77,35% de redução para o grupo tratado com IND e 58,98% para o grupo MOR. Os grupos tratados com os extratos apresentaram redução significativa, 32,67% ($p < 0,05$) para o EACBJ e 46,24% ($p < 0,01$) para o EEBCJ - gráfico 5.

A primeira fase, denominada de fase neurogênica tem relação com a dor em nível de SNC, com liberação da substância P, enquanto a segunda fase ocorre devido à liberação de histamina, serotonina, bradicinina e prostaglandinas. Então, substâncias que atuam no SNC, como narcóticos, inibem as duas fases igualmente, já aquelas como os AINES, de ação periférica, inibem apenas a segunda fase (ZEASHAN, et al., 2009).

Gráfico 5 - Efeito dos EEBCJ e EABCJ nas fases neurogênica e inflamatória do ensaio de nocicepção induzida por formalina.



Fonte: Autor (2019).

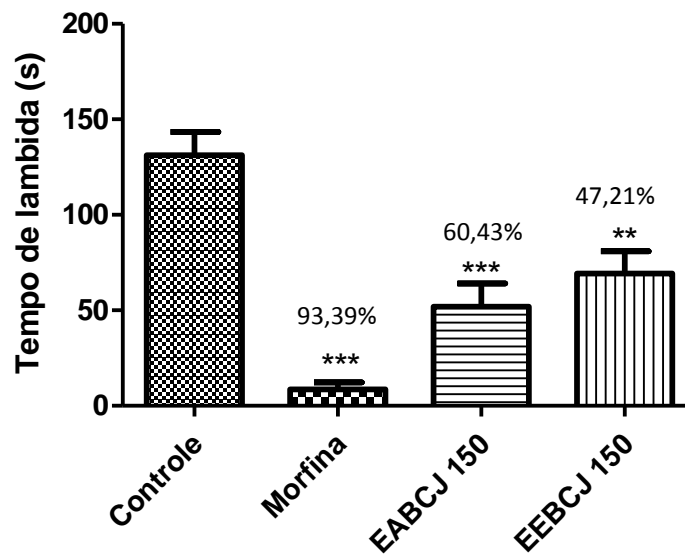
Nota: **1ª fase**: Neurogênica; **2ª fase**: Inflamatória. Controle (Salina, 10 mg/kg, v.o.); Morfina (MOR, 5 mg/kg, i.p.); Indometacina (IND, 30 µmol/kg, v.o.); Extrato aquoso bruto de *C. jamacaru* (EABCJ); e extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* (EEBCJ), ambos nas doses de 150 mg/kg, v.o. As colunas e as barras verticais representam a média ± e.p.m, respectivamente (n = 6). *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 comparado ao grupo veículo usando One-way ANOVA seguido do teste de Dunnet.

5.4.2.3 Ensaio de nocicepção induzida por glutamato

Neste ensaio foi avaliada a nocicepção através da resposta do animal dada com a lambida da pata. O fármaco padrão utilizado morfina (5 mg/kg, i.p.) apresentou uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,001$) do tempo de lambida dos animais pertencentes em relação ao grupo controle negativo. Ambos os extratos testados também reduziram estatisticamente este parâmetro (EABCJ: $p < 0,001$ e EEBCJ: $p < 0,01$).

O EABCJ reduziu 60,43%, enquanto o EEBCJ provocou 47,21% de redução do tempo de lambida de pata. Para efeitos comparativos, observamos o tempo de lambida dos animais pertencentes ao grupo controle negativo (salina, NaCl 0,9%, 10 mg/kg, v.o.) que foi em média 131s. A morfina inibiu 93,39%.

Gráfico 6 - Efeito dos EABCJ e EEBCJ no ensaio de nociceção induzida por glutamato.



Fonte: Autor (2019).

Nota: Controle (Salina, 10 mg/kg, v.o.); Morfina (MOR, 5 mg/kg, i.p.); Extrato aquoso bruto de *C. jamacaru* (EABCJ); e extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* (EEBCJ), ambos nas doses de 150 mg/kg, v.o. As colunas e as barras verticais representam a média ± e.p.m, respectivamente (n = 6). *p < 0,05, **p < 0,01; ***p < 0,001 comparado ao grupo veículo usando One-way ANOVA seguido do teste de Dunnet.

O glutamato é um aminoácido excitatório liberado pelo SNC e SNP em respostas nociceptivas. Seu efeito é dependente da ativação de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), o qual promove o aumento do cálcio intracelular que resulta na ativação da óxido nítrico sintetase (NOS) com consequente produção de óxido nítrico (NO) (FREIRE et al., 2009; BARDONI, 2013). Além disto, a via L-arginina-óxido nítrico tem envolvimento na resposta nociceptiva neste modelo. (BEIRITH, SANTOS e CALIXTO, 2002)

Os resultados demonstram que possivelmente os EEBCJ e EABCJ interferem de forma estatisticamente significativa no sistema glutamatérgico, inativando receptores NMDA e consequentemente diminuindo as respostas nociceptivas.

5.4.2.4 Ensaio de placa quente

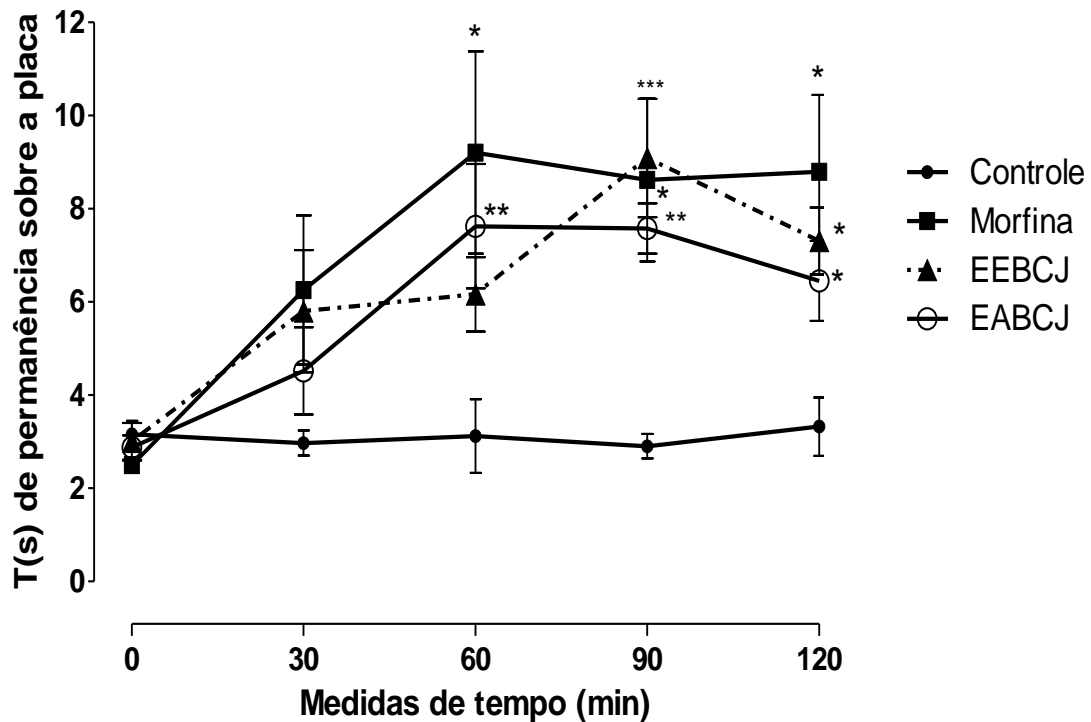
No ensaio de placa quente é possível avaliar o efeito antinociceptivo central dos extratos e o resultado demonstrou (Gráfico 7) que o tratamento com o fármaco padrão, morfina (5 mg/kg, i.p.), aumentou o tempo de latência dos animais na placa nos tempos de 60 e 120 minutos ($p < 0,05$) e no tempo de 90 minutos ($p < 0,001$).

O EEBCJ (150 mg/kg, v.o.) induziu aumento de forma estatisticamente significativa nos tempos de 90 ($p < 0,001$) e 120 minutos ($p < 0,05$) enquanto que o EABCJ (150 mg/kg, v.o.) aumentou nos tempos de 60, 90 ($p < 0,01$) e 120 minutos ($p < 0,05$).

O teste de placa quente induz dois comportamentos nos animais, considerados respostas supra-espinhais integradas (YEUNG; YAKSH; RUDY, 1977) Sendo comparados com a ação da morfina, semelhança ao que foi observada nos resultados dispostos no gráfico 7, com destaque para o extrato etanólico no tempo de 90 minutos.

Os resultados demonstram uma similaridade dos efeitos produzidos pelos extratos com a morfina, um agente opioide que promove analgesia central. Este medicamento exerce sua atividade supraespinhais através de receptores presentes no cérebro e medula espinhal (SNC). Receptores estes que estão ligados a diversos eventos fisiológicos relacionados a abertura dos canais de potássio, visto que, o aumento de íons K^+ leva a hiperpolarização da membrana, reduzindo a excitabilidade do neurônio (CROFFORD, 2010; HAESELER, et al. 2006). Sugerindo, portanto, que os EEBCJ e EABCJ podem atuar no mecanismo de ação central da nocicepção.

Gráfico 7 - Efeito antinociceptivo central dos EEBCJ e EABCJ no ensaio de placa quente.



Fonte: Autor (2019).

Nota: Controle (Salina, 10 mg/kg, v.o.); Morfina (MOR, 5 mg/kg, i.p.); Extrato aquoso bruto de *C. jamacaru* (EABCJ); e extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* (EEBCJ), ambos nas doses de 150 mg/kg, v.o. Os pontos representam a média \pm e.p.m, respectivamente (n = 6). *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 comparado ao grupo veículo usando One-way ANOVA seguido do teste de Dunnet.

5.4.3 Avaliação da atividade anti-inflamatória

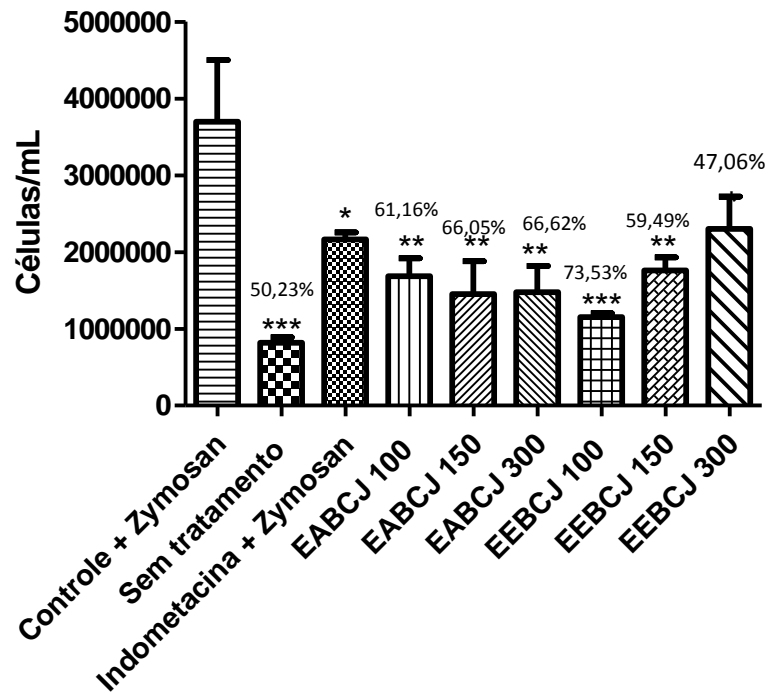
5.4.3.1 Ensaio de peritonite induzida por zymosan

No ensaio de peritonite induzida por zymosan, os grupos foram tratados com os EEBCJ e EABCJ nas doses de 100 mg/kg, 150 mg/kg e 300 mg/kg (v.o.). O efeito anti-inflamatório está representado pela quantificação dos leucócitos recrutados para a região peritoneal do animal através da indução da inflamação realizada com administração do zymosan.

Os resultados obtidos através da contagem de leucócitos (Gráfico 8) mostraram que o EABCJ nas doses de 100 mg/Kg, 150mg/Kg e 300mg/Kg apresentaram uma inibição do recrutamento leucocitário de forma estatisticamente significativa (p < 0,01) em 61,16%, 66,62% e 66,05% e as doses de 100 mg/kg e 150 mg/kg do EEBCJ apresentaram uma redução de 73,53% e 59,49% (p < 0,001 e

$p < 0,01$), respectivamente. A dose de 300 mg/kg do EEBCJ inibiu apenas 47,06% não demonstrando diferença significativa. A indometacina (30 $\mu\text{mol/kg}$, v.o), inibiu a migração celular em 50,23% ($p < 0,05$) em comparação ao grupo que recebeu apenas o agente flogístico zymosan mais salina.

Gráfico 8 – Efeito dos EEBCJ e EABCJ no ensaio de peritonite induzida por Zymosan.



Fonte: Autor (2019).

Nota: Controle (Salina, 10 mg/kg, v.o.); Zymosan (ZYM, 10 mg/ML, i. p.); Indometacina (IND, 30 $\mu\text{mol/kg}$, v.o.); Extrato aquoso bruto de *C. jamacaru* (EABCJ); e extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* (EEBCJ), ambos nas doses de 100, 150 e 300 mg/kg, v.o. As colunas e as barras verticais representam a média \pm e.p.m, respectivamente ($n = 6$). *** $p < 0,001$ comparado ao grupo veículo usando One-way ANOVA seguido do teste de Dunnett.

O zymosan é um polissacarídeo insolúvel formado a partir da levedura *Sacharomyces cerevisiae*. Neste ensaio, é utilizado por induzir uma degranulação celular e ativar macrófagos. Na cavidade peritoneal, ele aumenta a permeabilidade vascular, sendo este um dos principais sinais de inflamação. Isto forma um exsudato inflamatório e, de forma tempo-dependente, recruta células para migração dos leucócitos, principalmente os neutrófilos que são induzidos por citocinas quimioatraentes e proteínas quimiotáticas de monócitos 1 (MCP-1). A quimiocina é o componente envolvido neste processo de influxo dos leucócitos, tanto os neutrófilos,

quanto os monócitos e macrófagos). Além disto, esse processo é também dependente de cisteinil-leucotrienos, componente liberado por macrófagos peritoneais, da histamina liberada pelos macrófagos e das prostaglandinas e prostaciclina envolvidas no aumento da permeabilidade do vaso (DOHERTY, 1985; KOLACZKOWSKA, 2008).

Os resultados demonstrados neste ensaio corroboram os resultados da fase inflamatória do ensaio de formalina, sugerindo que o EEBCJ e EABCJ auxiliam na redução da migração dos leucócitos, reduzindo a liberação dos mediadores da inflamação e, conseqüentemente, diminuindo os efeitos ocasionados pelo processo inflamatório.

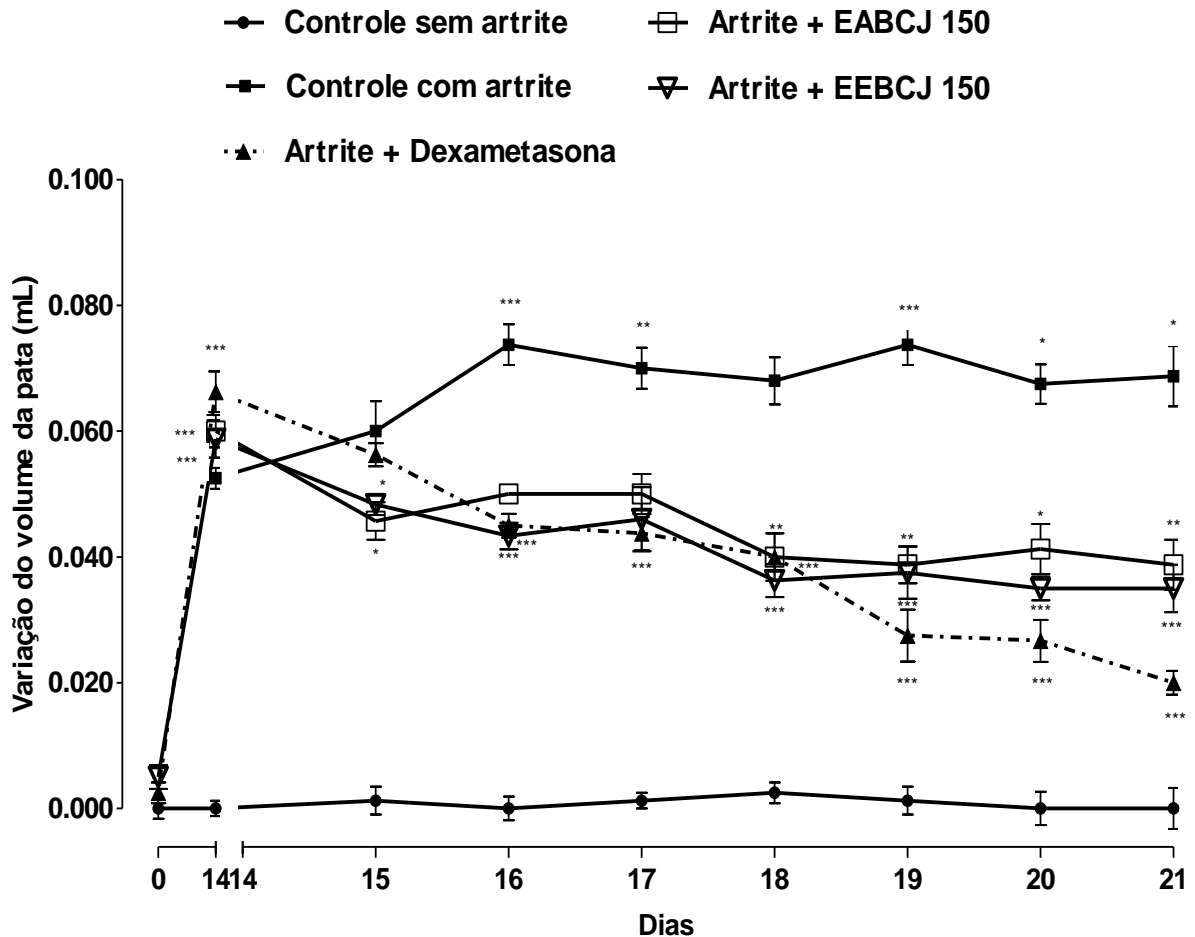
Este ensaio foi utilizado como triagem para realização do teste de inflamação crônica de artrite induzida por adjuvante completo de Freund. Nos ensaios de nocicepção a dose de 150 mg/kg demonstrou resultados satisfatórios e na triagem de inflamação, as de 100 mg/kg, 150 mg/kg e 300 mg/kg do EABCJ e 150 mg/kg de EEBCJ apresentaram uma significância estatística semelhante ($p < 0,01$), com exceção da dose de 100 mg/kg ($p < 0,001$) e a 300 mg/kg do EEBCJ que não foi significativa. Considerando também que na triagem dos testes de nocicepção a dose de 100 mg/kg não demonstrou significância estatística.

Com isso, a definição da dose teve também o intuito de padronizar os ensaios em uma dose específica, visto que, os anti-inflamatórios tem como uma das suas principais características, além da ação frente à inflamação, a ação de analgesia. Diante dos resultados obtidos e corroborando os demais testes de nocicepção realizados, a dose definida para dar continuidade aos testes de inflamação foi a de 150 mg/kg.

5.4.3.2 Ensaio de indução da síndrome de artrite experimental com adjuvante completo de Freund

A artrite induzida pelo adjuvante completo de Freund foi utilizada como modelo de inflamação crônica visto que, a administração provoca um edema caracterizado pelo aumento do volume da pata dos animais. A cronicidade desta inflamação se confirma através da manutenção da alteração persistente do volume da pata pelos 21 dias de experimento (Gráfico 9).

Gráfico 9 - Efeito dos EEBCJ e EABCJ no ensaio de artrite induzida pelo adjuvante completo de Freund.



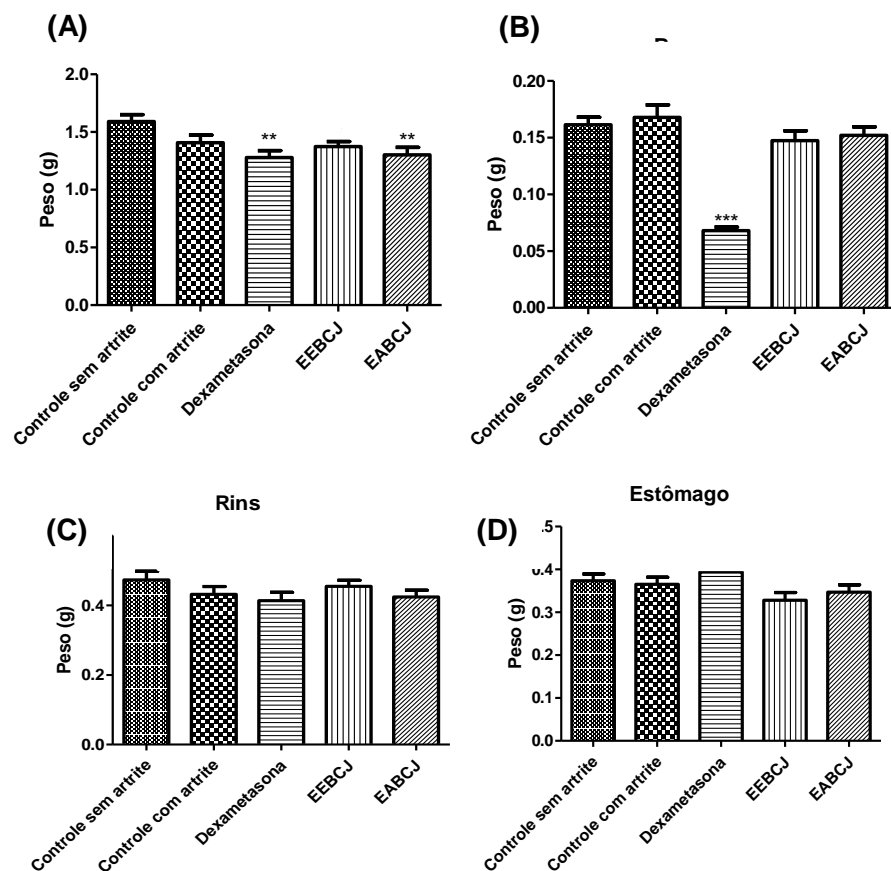
Fonte: Autor (2019).

Nota: Controle sem artrite (Salina, 10 mg/kg, v.o.); Controle com artrite (Salina, 10 mg/Kg, i. p.); Dexametasona (DEXA, 1mg/Kg, v.o.); Extrato aquoso bruto de *C. jamaru* (EABCJ); e extrato etanólico bruto de *C. jamaru* (EEBCJ), ambos na dose 150 mg/kg, v.o. Os pontos representam a média \pm e.p.m, respectivamente (n = 6). *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 comparado ao grupo veículo usando One-way ANOVA seguido do teste de Dunnet.

Os resultados demonstram (Gráfico 9) a atividade anti-inflamatória dos EEBCJ e EABCJ através da redução do volume do edema da pata dos camundongos. Para EABCJ foi possível verificar uma redução estatisticamente significativa nos dias 15 e 20 (*p < 0,05) e nos dias 18, 19 e 21 (**p > 0,01) de tratamento. O EEBCJ reduziu significativamente o edema a partir do dia 15 (*p < 0,05) e do dia 16 a 21 (***p < 0,001) assemelhando-se aos resultados obtidos com o

tratamento com dexametasona, glicocorticoide padrão utilizado no tratamento da AR. A dexametasona reduziu de forma significativa, também a partir do dia 15 (* $p < 0,05$) e do dia 16 a 21 (***) $p < 0,001$). O controle com e sem artrite se mantiveram dentro dos padrões esperados.

Gráfico 10 - Efeito dos EEBCJ e EABCJ na alteração do peso dos órgãos (fígado, baço, rim e estômago) no ensaio de artrite induzida pelo adjuvante completo de Freund.



Fonte: Autor (2019).

Nota: (A) Fígado; (B) Baço; (C) Rins; (D) Estômago. Controle sem artrite (Salina, 10 mg/kg, v.o.); Controle com artrite (Salina, 10 mg/Kg, i. p.); Dexametasona (DEXA, 1mg/Kg, v.o.); Extrato aquoso bruto de *C. jamaru* (EABCJ); e extrato etanólico bruto de *C. jamaru* (EEBCJ), ambos na dose 150 mg/kg, v.o. As colunas e as barras verticais representam a média \pm e.p.m, respectivamente (n = 6). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado ao grupo veículo usando One-way ANOVA seguido do teste de Dunnet.

No gráfico (A) é possível identificar a ocorrência de uma diminuição estatisticamente significativa na massa total (peso) do fígado dos animais tanto para

a dexametasona quanto para os tratamentos com os EEBCJ e EABCJ. Se observa também uma alteração significativa na redução da massa total do baço (B) dos animais tratados com dexametasona ($***p < 0,001$), isto devido a ação imunossupressora já descrita da literatura para este tipo de anti-inflamatório classificado como esteroideal. A análise macroscópica não identificou alterações como pontos ulcerosos ou hemorrágicos nos tecidos do fígado, baço, rins e estômago.

A AR é uma doença auto-imune crônica associada a um processo inflamatório nas articulações e esta associada à infiltração de células imunes neste local e ao aumento dos níveis de citocinas, quimionas e proteína C reativa na circulação (CALABRESI et al., 2018; SMOLEN et al., 2018). O uso do EEBCJ e EABCJ reduziu a inflamação articular sem causar alterações aparentes no TGI e sem induzir imunossupressão, características estas presentes nos AINES e GL (VAN DER LINDEN et al., 2009).

Alguns compostos fenólicos, como flavonoides e os taninos foram identificados nos EEBCJ e EABCJ. Alguns estudos tem avaliado o potencial anti-inflamatório dos compostos fenólicos. Por exemplo, os ácidos fenólicos possuem em sua estrutura um grupo carboxila e essa estrutura é bem semelhante a do ácido acetilsalicílico, analgésico, antitérmico e anti-inflamatório com seus efeitos farmacológicos bem elucidados. (OMANAKUTTAN et al., 2012; KUBO et al., 2005)

5.4.4 Avaliação de performance motora

5.4.4.1 Ensaio de barra giratória

O ensaio de barra giratória foi realizado para avaliar se os extratos provocam alguma alteração motora nos camundongos. Os resultados mostraram (Tabela 2) que o tratamento com os EABCJ e EEBCJ não alteraram o número de quedas da barra giratória, enquanto o tratamento (i.p.) com o fármaco padrão, diazepam, aumentou de forma estatisticamente significativa ($p < 0,001$) o número de quedas e também a latência à queda em segundos. Este efeito, já era esperado em relação ao fármaco visto que se trata de um benzodiazepínico que tem ação hipnótico e sedativa, com ação miorrelaxante, comprometedora da função muscular.

Tabela 2 - Efeito dos EABCJ e EEBCJ na coordenação motora de camundongos no teste da barra giratória.

Tratamentos	Nº de quedas	Latência a queda (s)
Veículo	0,0 ± 0,0	240,0 ± 0,0
DZP 1,5 mg/kg	11,40 ± 1,89***	23,27 ± 5,22***
EABCJ 150 mg/kg	0,0 ± 0,0	240,0 ± 0,0
EEBCJ 150mg/Kg	0,0 ± 0,0	240,0 ± 0,0

Fonte: Autor (2019).

Notas: Veículo (Salina, 10 mg/kg, v.o.); Diazepam (DZP, 1,5 mg/kg, i.p.); Extrato aquoso bruto de *C. jamacaru* (EABCJ); e extrato etanólico bruto de *C. jamacaru* (EEBCJ), ambos nas doses de 150 mg/kg, v.o. As colunas representam a média ± e.p.m. (n = 6). ***p < 0,001 comparado ao grupo veículo usando One-way ANOVA seguido do teste de Dunnet.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados deste estudo de avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória, foi concluído que, com exceção do EEBCJ-L na concentração de 100 µg/mL, os EEBCJ e EABCJ não reduziram a viabilidade celular e apresentaram-se atóxicos por via oral, visto que, nenhum animal foi a óbito ou apresentou alterações significativas na concentração de 2000 mg/kg/dia.

Foi identificada a presença de alcaloides, antraquinonas, flavonoides, taninos e saponinas no EEBCJ e para o EABCJ, os mesmos fitoquímicos foram identificados com exceção para as saponinas.

O EEBCJ e EABCJ demonstraram melhor dose-resposta na concentração de 150 mg/kg e induziram efeito antinociceptivo central e periférico. Em relação à inflamação, ambos induziram efeito anti-inflamatório nos processos de inflamação aguda e crônica. Foram descartadas alterações motoras a partir do uso via oral do EEBCJ e EACBJ nas doses de 150mg/kg.

Desta forma, esta pesquisa se torna um precursor para novos estudos etnofarmacológicos e de identificação fitoquímica, além de propor possíveis oportunidades de desenvolvimento farmacotécnico de formulações para uso racional e facilitado do extrato em estudo e de outros novos princípios ativos posteriormente isolados devido ao potencial farmacológico desta da planta.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P. et al. Uso de recursos vegetais da Caatinga: o caso do Agreste do estado de Pernambuco (nordeste do Brasil). **Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia**, v. 27, p. 336-346, 2002.
- ALDRICH, M. B. et al. Lymphatic delivery of etanercept via nanotopography improves response to collagen-induced arthritis. **Arthritis Research & Therapy**, v. 116, p. 1-13, 2017.
- ANDRADE, C. T. da S. **Atividade biológica do extrato metanólico bruto das raízes de cactáceas usadas na medicina popular**. 2013. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Feira de Santana, Feira de Santana. 2013.
- ANDRADE, C. T. S., MARQUES, J. G. W ; ZAPPI, D.C. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.3, p. 36-42, 2006
- ASHLEY, N. T.; WEIL, Z. M.; NELSON, R. J. Inflammation: Mechanisms, Costs, and Natural Variation. **Annual Review Of Ecology, Evolution, And Systematics**, v. 43, n. 1, p.385-406, 2012.
- BARDONI, R. Role of presynaptic glutamate receptors in Pain Transmission at the Spinal Cord Level. **Current Neuropharmacology**, v.11, n.5, p.477-483, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**, Brasília, DF, 2006.
- BEIRITH, A.; SANTOS, A. R. S. CALIXTO, J. B. Mechanims underlying the nociception and paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw. **Brain Research**, v. 924, p. 219-228, 2002.
- BRITO, A. E. et al. Vegetação costeira do nordeste semi-árido-guia ilustrado. **Universidade Federal do Ceará Edições**, p. 274, 2007.
- BRUM, S. S. et al. Esterificação de ácidos graxos utilizando zircônia sulfatada e compósitos carvão ativado/zircônia sulfatada como catalisadores. **Química Nova**, v. 34, p. 1511-1516, 2011.
- BOUHASSIRA, D.; ATTAL, N. Translational neuropathic pain research: A clinical perspective. **Neuroscience**, v. 338, p. 27–35, 2016.
- CALABRESI, E. et al. One year in review 2018: pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 36, n. 2, p. 175–184, [s.d.].
- CALIXTO, J. B., et al. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. **Phytotherapy Research**, v. 14, n.6, p. 401-18, 2000.
- CALIXTO, J. B. et al. Biological activity of plant extracts: novel analgesic drugs. **Expert Opinion on Emerging Drugs**, v. 6, n. 2, p. 261-79, 2001.

CARVALHO, C. H. F.; CARDOSO, C. F.; ERRANTE, P. R. Aspectos gerais e tratamento farmacológico da artrite reumatoide. **Revista UNILUS Ensino e Pesquisa**, v. 13, p. 122-132, 2016.

CAVALCANTI, N. B.; RESENDE, G. M. Plantas nativas da caatinga utilizadas pelos pequenos agricultores para alimentação dos animais na seca. In.: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 3., 2004, Campina Grande, PB. **Anais[...]** Campina Grande: UEPB/Sociedade Nordestina de Produção Animal; 2004.

COLLINS, T. Acute and chronic inflammation. In: COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T (Eds.). **Robbins pathologic basis of disease**. 6.ed. Philadelphia: Saunders, cap. 3, p. 50-88, 1999.

COTTRELL, J.; O'CONNOR, J. P. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on bone healing. **Pharmaceuticals**, v. 3, n. 5, p. 1668–1693, 2010.

DAVET, A. **Estudo fitoquímico e biológico do cacto – Cereus jamacaru de Candolle, Cactacea**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

DAVET, A. et al. *Cereus jamacaru*: A Non Buffered LC Quantification Method to Nitrogen Compounds. **Chromatographia**, v. 69, p. 245-247, 2009.

DAVET, A. et al. Atividade antibacteriana do *Cereus jamacaru* DC, Cactaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n. 2, 2009.

DOHERTY, N. S.; et al. Intraperitoneal injection of zymosan in mice induces pain, inflammation and the synthesis of peptidoleukotrienes and prostaglandin E2. **Prostaglandins**, v. 30, p. 769, 1985.

FONTANELLA F., Conhecimento, acesso e aceitação das práticas integrativas e complementares em saúde por uma comunidade usuária do Sistema Único de Saúde na cidade de Tubarão – SC. **Arquivo Catarinense de Medicina**, v. 36, n. 2, p. 69-74, 2007.

FREIRE, M.O.; VAN DYKE, T.E. Natural resolution of inflammation. **Periodontology**, v.63, n.1, p.149-164, 2013.

FREIRE, M. A. et al. Pain modulation by nitric oxide in the spinal cord. **Frontiers in Neuroscience**, v.3, p.175-181, 2009.

GARCIA-DIAZ, S.; COROMINAS, H. Nurse management of cardiovascular risk factors in rheumatoid arthritis. **British journal of nursing**, v. 22, n.14, p. 813-817, 2013.

GOZANNI, J. L. Fisiopatologia da dor. In: CAVALCANTI, I. L.; MADDALENA, M. L. Dor. Rio de Janeiro: **Sociedade de Anestesiologia do Estado do Rio de Janeiro**, p. 299, 2003.

GOMES D. C., et al. *In vitro* anthelmintic activity of the Zizyphus joazeiro bark against gastrointestinal nematodes of goats and its cytotoxicity on Vero cells. **Veterinary Parasitology**, p. 226, 2016.

GOMES, E, S, F. et al. Triagem fitoquímica e atividade antioxidante do cacto rabo de raposa *Harrisia adscendens* (gürke) britton & rose (cactaceae). **60° Congresso Nacional de Botânica**. 2009.

GUEDES, R. S. et al. Germinação de sementes de *Cereus jamacaru* DC. em diferentes substratos e temperaturas. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 31, n. 2, p. 159-164, 2009.

HEADLAN, S. E.; NORLING, L. V. The resolution of inflammation: principles and challenges. **Seminars in Immunology**, v.27, n.3, p.149-160, 2015.

HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, O. et al. Crassulacean acid metabolism photosynthesis in columnar cactus seedlings during ontogeny: the effect of light on nocturnal acidity accumulation and chlorophyll fluorescence. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 8, p. 1344 -1351, 2007.

HOEFFEL J. L. M. et al. Conhecimento tradicional e uso de plantas medicinais nas apas´s Cantareira/SP e Fernão dias/MG. **Revista VITAS**, v.2, n. 1, v. 05-09, 2011

HUANG, Y. et al. Biological and pharmacological effects of hexahydrocurcumin, a metabolite of curcumin. **Archives Biochemistry Biophysics**, v. 15, n. 646, p. 31-37, 2018.

HUNT, D. R.; TAYLOR, N. P.; CHARLES, G. **The new cactus lexicon**. 2 vols DH Books, Milborne Port, U.K., 900p. 2006.

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

KLEIN, H. Biological control of three cactaceous weeds, *Pereskia aculeata* Miller, *Harrisia martinii* (Labouret) Britton and *Cereus jamacaru* De Candolle in South Africa. **African Entomology Memoir**, v.1, n.1, p. 3–14, 1999.

KRAMER, J. et al. Neuropathic pain following traumatic spinal cord injury: models, measurement, and mechanisms. **Journal of Neuroscience Research**, v. 95, n. 6, p. 1295-1306, 2016.

KUBO, I. et al. Antioxidant activity of anacardic acids. *Food Chemistry*, v. 99, n. 3, p. 555–562, 2006.

KUMAR, P. BANIK, S. Pharmacotherapy options in rheumatoid arthritis. *Clinical Medicine Insights*. **Arthritis and Musculoskeletal Disorders**, v. 6, p. 35 – 43, 2013.

KUMAR, V. et al. **Patologia – Bases patológicas das Doenças**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

LAEV, S. S.; SALAKHUTDINOV, N. F. Bioorganic & Medicinal Chemistry Antiarthritic agents: Progress and potential q. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 13, p. 3059–3080, 2015.

LARA et al. Avaliação do consumo de produtos naturais por usuários de estratégias de saúde da família do município de Rondonópolis – MT. **Revista Univap**, v. 25, n. 47, 2019

LEAL F., SCHWARTSMANN G., LUCAS H.S. Medicina complementar e alternativa: uma prática comum entre pacientes com câncer. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 54, n.6, p. 471- 486, 2008.

LIMA, D. A., **Plantas da Caatinga**. São Paulo: Academia Brasileira de Ciências, 1989.

LIMA, G. F. C. Alternativas de seleção e manejo de volumosos forrageiros para atividade leiteira no Nordeste. In.: SIMPÓSIO AGRONEGÓCIO DO LEITE NO NORDESTE: ALTERNATIVAS TECNOLÓGICAS E PERSPECTIVAS DE MERCADO, 1998, Natal, RN. **Anais[...]** Natal: EMPARN/ FIERN/SENAI. p. 192; 1998.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. M. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. São Paulo: Nova Odessa, 2002.

LOURENZANI A., LOURENZANI W. L., BATALHA M. O. Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar. **Informações Econômicas**, v. 34, p. 15-25, 2004.

LUMLEY, M. A. The working alliance and Clinician-assisted Emotional Disclosure for rheumatoid arthritis. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 104, p. 9-15, 2018.

MACHADO, M. G. M. **Síntese e avaliação anti-inflamatória de derivados esteroides da série LAPDESF GL-FT**. 2017. Tese (Doutorado Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2017.

MEDEIROS, I. U. **Identificação dos princípios ativos presentes no extrato etanólico de *Cereus jamacaru* e avaliação em ratos dos possíveis efeitos tóxicos e/ou comportamentais da exposição prolongada**. Dissertação.(Mestrado em ciências farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

MEIADO, M. V. et al. Seed germination responses of *Cereus jamacaru* D.C. ssp. *jamacaru* (Cactaceae) to environmental factors. **Plant Species Biology**, v. 25, n. 2, p. 120-128, 2010.

MENDES, V. A. et al. Avaliação do uso de produtos naturais na prática do profissional de saúde. **Revista Saúde**, v. 44, n. 1, p. 1-7, 2018.

MOTA, L. M. H. et al. Consensus of the Brazilian Society of Rheumatology for Diagnosis and Early Assessment of Rheumatoid Arthritis. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, n. 3, p. 199–219, 2011.

NAIDU, R. K.; PHAM, T. M. Pain management. *In*: SIKKA, P. K.; BEAMAN, S. T.; STREET, J. A. **Basic Clinical Anesthesia**. New York: Springer, p. 265-296, 2015.

NASEF, N. A.; MEHTA, S.; FERGUSON, L. R. Susceptibility to chronic inflammation: an update. **Archives of Toxicology**, v. 91, p. 1131–1141, 2017.

NAVRATILOVA, E. et al. Evaluation of reward from pain relief. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1282, p. 1-11, 2010.

NOGUEIRA, T. M. O. **Caracterização da atividade antinociceptiva do extrato metanólico de *Adiantum latifolium* Lam. em modelos experimentais de dor inflamatória**. Dissertação. (Mestrado em biotecnologia em saúde e medicina) – Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, Salvador, 2010.

OLIVEIRA S. G. D. et al. An ethnomedicinal survey on phytotherapy with professionals and patients from Care Units in the Brazilian Unified Health System. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, n.2, p. 428-437, 2012.

OMANAKUTTAN, A. et al. Anacardic acid inhibits the catalytic activity of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9. *Molecular pharmacology*, v. 82, n. 4, p. 614–22, 2012.

ORTEGA-BAES, P. et al. Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. **Biodiversity & Conservation**, v. 15, n. 3, p. 817-827, 2006.

PAULINO, R. C. et al. Riqueza e importância das plantas medicinais do Rio Grande do Norte. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 11, p. 157-168, 2011.

PRÁ, S. D. T. et al. Antinociceptive activity and mechanism of action of hydroalcoholic extract and dichloromethane fraction of *Amphilophium crucigerum* seeds in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 195, p. 283–297, 2017.

RADU, B. M. et al. Neurovascular unit in chronic pain. **Mediators of inflammatory**. v. 2013, n. 648268, p. 1-18, 2013.

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

RONCHETTI, S.; MIGLIORATI, G.; DELFINO, D. V. Association of inflammatory mediators with pain perception. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 1445–1452, 2017.

ROQUE A. A.; ROCHA R. M.; LOIOLA M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio

Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n.1, p. 31-42, 2010

SALDANHA, A. A. et al. Peripheral and central antinociceptive effects of the butanolic fraction of *Byrsonima verbascifolia* leaves on nociception-induced models in mice. **Inflammopharmacology**, v. 25, p. 81-90, 2017.

SANTANA, A. M. **Composição química e atividades antioxidante e biológica das frações clorofórmica e hidrometanólica do extrato da raiz de *Cereus jamacaru* DC.** (Cactaceae) Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana – Bahia 2016.

SANTOS, M. P., et al. Cannabis sativa e Salvia divinorum – uso irresponsável de plantas medicinais com atividade psicoativas. **Revista de Trabalhos Acadêmicos**, n 2, p. 1-7, 2011.

SARAIVA M. E., et al. Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 17, p. 141–153, 2015.

SILVA, J. G. M. et al. Xiquexique (*Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum.) Bly. Ex Rowl.) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) na alimentação de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1408-1417, 2005.

SILVA P. P. P. et al. Determinação da atividade antimicrobiana e avaliação da toxicidade do *Cereus Jamacaru* DC (MANDACARU) e da *Opuntia ficus-indica* (L.) MILL (PALMA FORRAGEIRA) **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 14, n. 3, p. 5-15, 2017.

SMOLEN, J. S. et al. Rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 4, p. 18001, 8 fev. 2018.

SMOLEN, J. S. et al. Adjustment of therapy in rheumatoid arthritis on the basis of achievement of. **The Lancet**, v. 383, p. 321–332, 2014.

SMOLEN, J. S. et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. **Annals of the Rheumatic Diseases**, p. 1–18, 2013

STYPINSKA, B. et al. **Lack of significant association between selected *STAT3* polymorphisms and rheumatoid arthritis in the Polish population.** *Reumatologia*, v. 56, n. 2, p. 73-79, 2018.

SOUZA, R. D. **Estudo dos Pigmentos polares do Extrato das cascas dos Frutos de Manacaru (*Cereus fernambucensis* – Cactaceae.** Dissertação. (Mestrado em Produção Vegetal com ênfase em Química de Alimentos) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2013.

TAYLOR, N.P.; ZAPPI, D.C. **Cacti of Easyern Brazil**, Royal Botanic Gardens, Kew, 2004.

TEIXEIRA, M. J. Fisiopatologia da nocicepção e da supressão da dor. **Jornal Brasileiro de oclusão, ATM e dor orofacil**, v. 1, n. 4, p. 329-334, 2001.

TEIXEIRA, F. M. **Avaliação comparativa do efeito de fármacos anti-inflamatórios com a acupuntura no modelo de dor pós-incisional em ratos**. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2010.

TREVISANI, V.F.M.; FIDELIX, T.S.A.; APPENZELLER, S. Uso dos antiinflamatórios não hormonais na artrite reumatoide, osteoartrite e na lombalgia. **Revista Moreira Jr.**, v. 69, n. 1/2, p. 26 a 31, 2011.

VIERCK, C.; YEZIERSKI, R. Comparison of operant escape and reflex tests of nociceptive sensitivity. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 51, p. 223-242, 2015.

WALL, P. D.; MELZACK, R. **Textbook of pain**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1999.

WATSON, T. **Soft tissue repair and healing review**. 2012. Disponível em: <<http://www.electrotherapy.org/modality/soft-tissue-repair-and-healing-review>>. Acesso em: 26 de Julho de 2018.

WHITTAKER, A.; HOWARTH, G. et al. Use of spontaneous behaviour measures to assess pain in laboratory rats and mice: how are we progressing? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 151, p. 1–12, 2014.

WILSDON, T.D.; HILL, C.L. Managing the drug treatment of rheumatoid arthritis. **Australian Prescriber**, v. 40, n. 2, p. 51-58, 2017.

WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, C. W. Carageenan induced edema in hind paw of the rats as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1962;111:544–7.

WOLKERSTORFER A.; HANDLER N.; BUSCHMANN H. New approaches to treating pain. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, p. 1103–1119, 2016.

ZAPATA, M. E.; SANABRIA D. R. Reduction of phytopathogenic fungi development with cactus lefaria (*Cereus deficiens* Otto & Diert) extract. **Interciencia**, v. 28, p. 302-206, 2003.

ZEASHAN, H. et al; Antinociceptive activity of *Amaranthus spinosus* in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, p. 492, 2009.

APÊNDICES

Apêndice A

TRIAGEM – DIA 1							
CONDICIONAMENTO – TESTE DE BARRA GIRATÓRIA							
GRUPO 1	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
A1	47	240	240	240	-----	-----	-----
A2	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A3	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A4	91	240	240	-----	-----	-----	-----
A5	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A6	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
GRUPO 2	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
A1	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A2	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A3	36	240	240	-----	-----	-----	-----
A4	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A5	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A6	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
GRUPO 3	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
A1	50	240	240	-----	-----	-----	-----
A2	16	240	240	-----	-----	-----	-----
A3	78	240	240	-----	-----	-----	-----
A4	22	240	240	-----	-----	-----	-----
A5	23	240	240	-----	-----	-----	-----
A6	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
GRUPO 4	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
A1	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A2	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A3	16	240	120	47	43	120	240
A4	160	240	240	-----	-----	-----	-----
A5	105	86	92	79	240	240	-----
A6	240	240	-----	-----	-----	-----	-----

Apêndice B

TRIAGEM – DIA 2

CONDICIONAMENTO – TESTE DE BARRA GIRATÓRIA

GRUPO 1	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
A1	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A2	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A3	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A4	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A5	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A6	240	240	-----	-----	-----	-----	-----

GRUPO 2	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
A1	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A2	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A3	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A4	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A5	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A6	240	240	-----	-----	-----	-----	-----



}

GRUPO 3	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
A1	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A2	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A3	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A4	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A5	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A6	240	240	-----	-----	-----	-----	-----

GRUPO 4	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
A1	240	170	240	-----	-----	-----	-----
A2	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A3	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A4	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A5	240	240	-----	-----	-----	-----	-----
A6	240	240	-----	-----	-----	-----	-----

ANEXOS

Anexo I

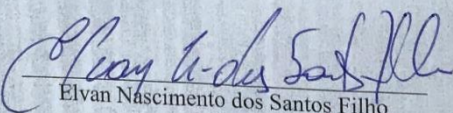

 UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
 PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA 
 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "*Avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato aquoso bruto da Cereus jamacaru (Mandacaru)*", registrada com o nº 27/2018, sob a responsabilidade da **Profa. Dra. Eliane Aparecida Campesatto**, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), **para fins de pesquisa científica**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (CEUA/UFAL), em reunião de 06 de julho de 2018.

Vigência da autorização	01.09.2018 a 31.07.2019
Espécie/linhagem/raça	Camundongos / Swiss
Nº de animais	246
Peso/idade	25-35g / Adulta
Sexo	123 machos e 123 fêmeas
Origem/Local de manutenção	Biotério Central da Ufal /Laboratório de Farmacologia e Imunidade do ICBS/UFAL
Colaboradores	Alyne Almeida de Lima

Maceió, 16 de julho de 2018.


 Elvan Nascimento dos Santos Filho
 Coordenador da CEUA
 SIAPE 1756479

Anexos II

