

EXTRATOS METANÓLICOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Erythroxylum*, PROVENIENTES DA CAATINGA, DEMONSTRAM POTENCIAL ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA

Luana Camilla Cordeiro Braz (1); Darlyson Tavares Guimaraes (1); Franklin Ferreira de Farias Nóbrega (2)*

(1) *Graduandos em Eng. de Biotecnologia e Bioprocessos, Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande.*

(2) *Professor Adjunto, Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande, *e-mail: franklin.ferreira@ufcg.edu.br*

Resumo: As espécies vegetais são uma potencial fonte de substâncias ativas. Estima-se que cerca de 30% de todas as drogas avaliadas como agentes terapêuticos sejam diretamente derivados de produtos naturais. Nesse cenário, o Brasil apresenta um potencial ainda não explorado, possuindo grande diversidade de espécies vegetais, muitas dessas endêmicas do bioma Caatinga. Os extratos das espécies de *Erythroxylum* já demonstraram diversas atividades farmacológicas, como antinociceptiva, anti-inflamatória e antimicrobiana. Assim, essas espécies podem contribuir na descoberta de novos fármacos que possibilitem o tratamento da dor e processos inflamatórios. O objetivo deste trabalho foi avaliar atividade antinociceptiva dos extratos metanólicos de *E. revolutum* (EREV) e *E. simonis* (ESIM), contribuindo para o conhecimento farmacológico dessas espécies. Para tal, camundongos (*Mus musculus*), machos e fêmeas, foram divididos em grupos (n=6), submetidos a pré-tratamentos, com extratos, veículo ou droga padrão, e avaliados por meio dos testes da formalina e da placa quente. Na 1ª fase do teste da formalina, os extratos EREV (64,0±10,2) e ESIM (62,4±6,9) reduziram significativamente (p<0,01) o tempo de lambida da pata em comparação ao controle (110,9±5,4). Na 2ª fase, EREV (24,0±16,0) alcançou maior redução e significância que a Morfina (84,38±35,14). No teste da placa quente após 30 minutos da administração, foram obtidos resultados significativos (p<0,05) para EREV (17,2±4,3) e ESIM (16,8±4,0), na dose de 100mg/kg, em comparação ao controle (6,8±1,3). Os resultados obtidos para EREV e ESIM sugerem uma atividade antinociceptiva de efeito central, com eficácia semelhante a da Morfina, porém com uma potência inferior.

Palavras-chave: *Erythroxylum revolutum*, *Erythroxylum simonis*, Dor, Psicofarmacologia.

INTRODUÇÃO

Considerando seu frequente uso pelas comunidades no tratamento de uma variedade de doenças no homem, as espécies vegetais constituem uma das mais importantes fontes de substâncias ativas com potencial terapêutico (SOUZA et al., 2009). Os efeitos benéficos obtidos pelo uso de drogas de origem natural contribuíram para que a medicina popular e tradicional introduzisse fármacos a terapêutica moderna (SOARES et al., 2009).

Estima-se que cerca de 30% de todas as drogas avaliadas como agentes terapêuticos sejam diretamente derivados de produtos naturais (VEIGA-JUNIOR; MELLO, 2008). O arsenal terapêutico atualmente disponível inclui medicamentos resultantes da purificação de extratos

(85) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

de origem vegetal e de isolamento de seus princípios ativos. Alguns exemplos são alcalóides, antibióticos, vitaminas, hormônios, entre outros (SOARES et al., 2009).

No Brasil, a utilização de plantas medicinais apresenta influências das culturas indígena, africana e europeia e é favorecida pela rica diversidade vegetal. Apresenta-se em uma posição privilegiada: estimando-se ser possuidor de cerca de 20% do número total de espécies vegetais do planeta. Sendo uma abundante fonte de produtos terapêuticos. No entanto, este potencial para a descoberta de plantas como fonte de novas drogas ainda é pobremente explorado ou regulamentado (BRAZ et al., 2012; LIMA et al., 2010).

O desenvolvimento do setor de plantas medicinais e fitoterápicos pode se configurar como uma importante estratégia para o enfrentamento das desigualdades regionais existentes em nosso país, podendo prover a necessária oportunidade de inserção socioeconômica das populações de territórios caracterizados pelo baixo dinamismo econômico e indicadores sociais precários.

O gênero *Erythroxylum* (*Erythroxylaceae*) compreende espécies de porte arbustivo ou arbóreo, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, África, Sudeste Asiático e Austrália. O Brasil é considerado um dos centros de diversidade e endemismo de *Erythroxylum* e um total de 114 espécies ocorrem no país. Para o nordeste brasileiro, foram listadas 66 espécies do gênero, dentre as quais 25 (37,31%) são endêmicas (LOIOLA, 2007).

O gênero ganhou notoriedade no século XIX, logo após a comprovação das atividades farmacológicas apresentadas pelas partes aéreas da *Erythroxylum coca* Lam, que já vinham sendo empregadas secularmente pelos indígenas da América do Sul (OLIVEIRA, 2012). Desde então, várias espécies do gênero vem sendo estudadas para identificação de efeitos terapêuticos (ALBUQUERQUE, 2013; LUCAS FILHO, 2012; OLIVEIRA, 2012; ZANOLARI et al., 2003). Estudos com os extratos das espécies *Erythroxylum revolutum* e *Erythroxylum simonis* realizados por Silva e Nóbrega (2014) obtiveram resultados que sugerem uma possível atividade antinociceptiva.

A compreensão e o alívio da dor têm sido uma preocupação constante da humanidade. Devido à baixa eficácia e expressivos efeitos adversos apresentados pela maioria dos fármacos disponíveis no mercado farmacêutico para alívio da dor, surge o grande interesse dos pesquisadores na descoberta de novos protótipos de fármacos provenientes de plantas da flora brasileira (SILVA et al., 2013).

A dor é uma sensação desagradável que, em muitos casos, representa o único sintoma para o diagnóstico de várias doenças (ABDULMALIK et al., 2011). A sensação de dor envolve o componente fisiológico, a nocicepção, que engloba as vias neuroanatômicas, bem como os mecanismos neurológicos e os receptores específicos que detectam o estímulo lesivo. Mas diferente de nocicepção, a dor incorpora componentes sensoriais com influências pessoais e ambientais importantes, sendo esse o componente emocional (KANDEL et al., 2003).

Portanto, observada a ocorrência de muitas espécies de *Erythroxylum* encontradas na Paraíba e com despontar de vários estudos comprovando seu potencial farmacológico optou-se pelo estudo de algumas espécies desse gênero (*Erythroxylum revolutum* e *Erythroxylum simonis*), cujos estudos químicos e farmacológicos ainda não são conhecidos. Este trabalho tem como objetivo contribuir para o conhecimento farmacológico dessas espécies, avaliando a atividade antinociceptiva dos extratos metanólicos de *Erythroxylum revolutum* e *Erythroxylum simonis*, através de metodologias comportamentais específicas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal: processamento e obtenção dos extratos

As partes aéreas das espécies de *Erythroxylum* foram coletadas no Pico do Jabre, Maturéia-PB. O material botânico foi identificado pela Prof. Dra. Maria de Fátima Agra e uma exsicata de cada planta está depositada no herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Os extratos foram preparados e fornecidos pelo Laboratório de Fitoquímica Experimental do Centro de Biotecnologia (CBiotec - UFPB), segundo a metodologia: os materiais vegetais foram dessecados em estufa com ar circulante a 40 °C durante 72 horas. Em seguida, foram submetidos a um processo de pulverização em moinho mecânico. O pó obtido foi submetido à maceração com metanol durante 72 horas. Esse processo de maceração foi repetido 3 vezes. Após a extração, a solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida e a uma temperatura de 40°C obtendo, assim, o extrato metanólico bruto.

Para a administração, o veículo e o agente solubilizante foram, respectivamente, solução salina e Tween 80 obedecendo a proporção de 0,05 mL de Tween 80 para cada mL do veículo.

Animais

(83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

Foram utilizados nos testes comportamentais camundongos (*Mus musculus*) Swiss, albinos, adultos, saudáveis, machos e fêmeas (nulíparas e não grávidas), pesando entre 20-40 g e entre 2 e 3 meses de idade. Esses animais foram obtidos do Biotério Prof. Dr. Thomas George (CBiotec - UFPB). Foram alojados em gaiolas de polipropileno devidamente higienizadas e mantidas sob condições laboratoriais padrão como: temperatura de $21 \pm 2^\circ\text{C}$, com 12 horas de luz/escuro e sem uso de qualquer medicação, com acesso livre (*ad libitum*) à comida e água potável em garrafas de polietileno, com bicos de inox.

Os ensaios comportamentais foram conduzidos no Laboratório de Psicofarmacologia (CBiotec – UFPB). Antes da execução dos testes, os animais foram alojados em outras gaiolas do mesmo material descrito, por pelo menos 60 minutos de antecedência, tentando minimizar as possíveis alterações comportamentais dos animais e permitir a adaptação do mesmo ao novo ambiente.

Avaliação da atividade anti-inflamatória e antinociceptiva pelo Teste da Formalina

O teste da formalina é um modelo válido e confiável de nocicepção e é sensível para vários compostos com atividade de analgesia (HUNSKAAR; HOLE, 1987). O método consistiu na administração de uma solução de formalina na região subplantar (parte de baixo da pata) do camundongo que leva a estimulação dos nociceptores. A resposta dividiu-se em duas fases, onde foi quantificado o tempo de lambida da pata. Nos ensaios, foram utilizados camundongos em grupos (n=6, de ambos os sexos) que receberam por via i.p., os seguintes pré-tratamentos (Tabela 1):

Tabela 1. Pré-tratamentos recebidos pelos grupos de animais no Teste da Formalina.

Grupo	Tratamento
Controle	Veículo
Experimental 1	Extrato de <i>E. simonis</i> (ESIM) 200mg/Kg
Experimental 2	Extrato de <i>E. revolutum</i> (EREV) 200 mg/kg
Droga Padrão	Morfina 10 mg/kg

Fonte: Autoria própria (2016).

Após 30 minutos os animais receberam a injeção subplantar (pata posterior direita) de 20 μL de solução de formalina 2,5%, em seguida os animais foram colocados nas caixas de observação, onde foi registrado o tempo total de lambida da pata durante 5 minutos (1^o fase). Com o término do período de 10 minutos, caracterizado como tempo de inibição da dor, contabilizou-se o tempo de 15 minutos (2^o fase).

Avaliação da atividade antinociceptiva pelo método da Placa Quente

(83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

No teste da placa quente, foi adotada, com algumas alterações, a metodologia descrita por Eddy e Leimback (1953). Esse teste consiste em quantificar o tempo de reação do animal ao estímulo térmico, sendo um modelo específico para a detecção de substâncias analgésicas de efeito central (SILVA et al., 2013).

Os animais foram colocados sobre uma placa à temperatura de 55 ± 1 °C até apresentar o comportamento de pular, resposta indicativa de nocicepção. O tempo máximo de permanência na placa foi de 30 segundos, de maneira a evitar lesão tecidual (BENEDITO, 2009). Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, um grupo controle e um padrão (n=6) que receberam os seguintes tratamentos mostrados na Tabela 2:

Tabela 2. Tratamentos recebidos pelos grupos de animais no experimento da Placa Quente.

Grupo	Tratamento
Controle	Veículo
Experimental 1	Extrato de <i>E. simonis</i> (ESIM) 100mg/Kg
Experimental 2	Extrato de <i>E. simonis</i> (ESIM) 50mg/Kg
Experimental 3	Extrato de <i>E. revolutum</i> (EREV) 100 mg/kg
Experimental 4	Extrato de <i>E. revolutum</i> (EREV) 50 mg/kg
Droga Padrão	Morfina 10 mg/kg

Fonte: Autoria própria (2016).

Os extratos foram administrados por via i.p. e foram feitas leituras do comportamento nociceptivo nos tempos de 30 e 60 minutos após a administração. Foi registrado o tempo de pulo para expressar a atividade protetora dos extratos.

Análise estatística

Para o tratamento estatístico dos dados foi utilizado o *software* Graph Pad Prism 4. Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente através do teste de análise de variância (ANOVA), seguido do Teste de Dunnet. Os valores obtidos foram expressos em média \pm erro padrão da média (e.p.m.), sendo os resultados considerados significativos quando apresentaram um valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Efeitos dos extratos EREV e ESIM no Teste da Formalina

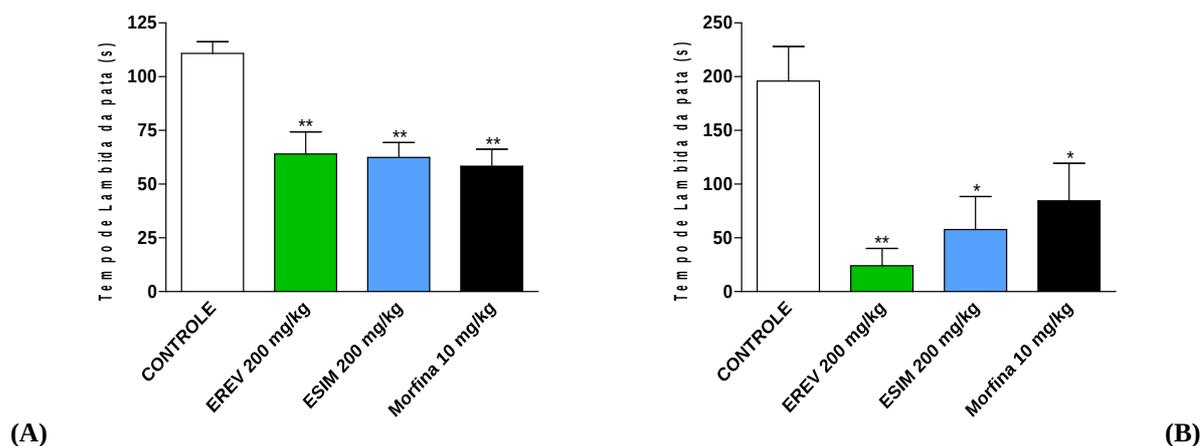
Na primeira fase do teste da formalina, ambos os extratos na dose de 200mg/kg apresentaram redução significativa ($p < 0,01$) no tempo de lambida da pata. O extrato de *Erythroxylum* (83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

revolutum (EREV) apresentou uma média de $64,0 \pm 10,2$ e o extrato de *Erythroxylum simonis* (ESIM), uma média de $62,4 \pm 6,9$, enquanto que o grupo controle apresentou média de $110,9 \pm 5,4$. Os extratos alcançaram significância semelhante à Morfina (10 mg/kg) que obteve uma média de $58,4 \pm 7,9$. Esses resultados podem ser observados graficamente na Figura 1A.

Figura 1. Efeitos dos Extratos EREV e ESIM na 1ª e 2ª fase do teste da formalina.



Legenda: (A) primeira fase do teste da formalina, (B) segunda fase. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. ANOVA “one-way” seguido pelo Teste de Dunnett. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ comparando com o veículo (controle). **Fonte:** Autoria própria (2016).

Os extratos EREV e ESIM na dose de 200 mg/kg também apresentaram efeito significativo na segunda fase do teste da formalina, com médias de tempo de lambida da pata de $24,0 \pm 16,0$ e $57,8 \pm 30,7$, respectivamente. Esses valores, mostrados na Figura 1B, demonstram uma redução significativa com relação ao controle ($196,0 \pm 32,1$).

O extrato EREV mostrou-se especialmente eficaz nesse teste, pois o tempo de lambida na segunda fase do teste apresentou maior redução e nível de significância ($p < 0,01$) do que o padrão Morfina ($p < 0,05$), que apresentou média de $84,38 \pm 35,14$.

O teste da formalina serve para avaliar uma resposta nociceptiva bifásica, pois apresenta uma fase neurogênica e uma fase inflamatória. A primeira fase inicia-se imediatamente após a injeção de formalina e se estende pelos primeiros cinco minutos (dor neurogênica ou aguda), estando relacionada com a estimulação química direta dos nociceptores das fibras aferentes do tipo C e está associada à liberação de aminoácidos excitatórios, óxido nítrico e substância P (SILVA et al., 2013; HUNSKAAR; HOLE, 1987), caracterizando, portanto, uma nocicepção mediada por ação central.

A segunda fase ocorre entre 15 e 30 minutos após a injeção de formalina e está relacionada a liberação de vários mediadores pró-inflamatórios, como bradicinina, prostaglandinas e

(83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

serotonina, entre outros, caracterizando nocicepção de efeito periférico (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

O teste da formalina em camundongos é considerado atualmente o modelo que mais de aproxima da dor clínica (SOARES et al., 2009). A vantagem deste teste sobre outros métodos de nocicepção é a possibilidade de avaliar dois tipos diferentes de dor ao longo de um período prolongado de tempo e, assim, permite o teste de analgésicos com diferentes mecanismos de ação (RANDOLPH, 1997). Assim, é possível analisar substâncias antinociceptivas de efeito central ou periférico. Observa-se que drogas que agem no sistema nervoso central são capazes de inibir igualmente as duas fases, enquanto que drogas que atuam periféricamente inibem apenas a fase tardia (segunda fase) (ARAÚJO, 2007).

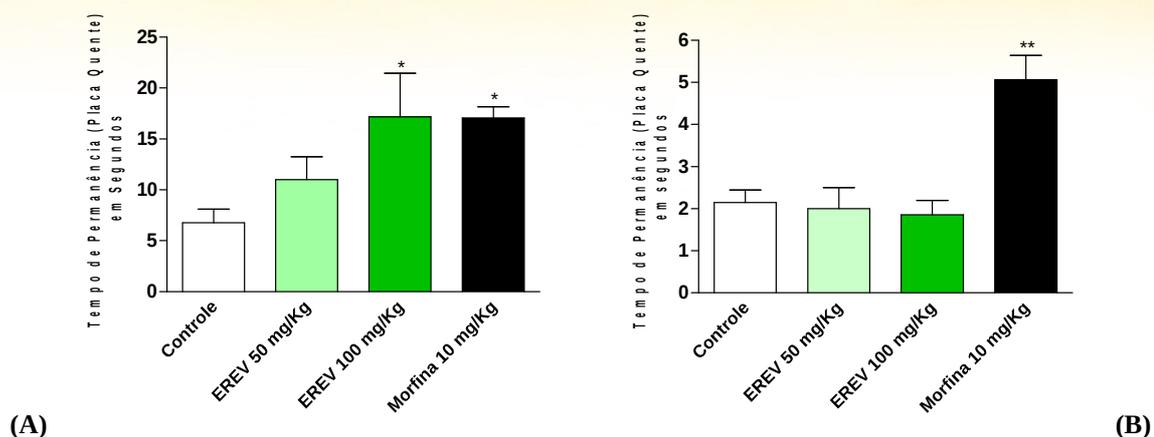
Considerando que ambos os extratos foram capazes de atuar nas duas fases do teste da formalina, pode-se inferir seu efeito antinociceptivo de ação central. Esses resultados no teste da formalina puderam ser seguidos por metodologias específicas para análise do efeito central dos extratos, como o teste da placa quente, no qual se tornou possível testar menores doses dos extratos.

Efeito do Extrato de *Erythroxylum revolutum* (EREV) no Teste da Placa Quente

No teste da placa quente após 30 minutos de administração dos extratos de *Erythroxylum revolutum* (EREV) na dose de 100 mg/kg ocasionou um aumento significativo ($p < 0,05$) no tempo de permanência dos animais na placa, conforme mostra o gráfico da Figura 2A.

Os grupos tratados com o EREV 100 mg/kg e com a Morfina 10 mg/kg apresentaram médias de permanência $17,2 \pm 4,3$ e $17,1 \pm 1,1$, respectivamente. O grupo controle apresentou tempo de permanência de $6,8 \pm 1,3$ e a administração extrato de *E. revolutum* na dose de 50 mg/kg resultou numa média de permanência na placa quente de $11,0 \pm 2,3$. A diferença entre eles não foi significativa pelo teste de Dunnet.

Figura 2. Efeitos do Extrato de *Erythroxylum revolutum* nas doses de 50 mg/kg e 100 mg/kg no teste da placa quente.



Legenda: (A) após 30 minutos e (B) após 60 minutos da administração. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ comparando com o veículo (controle) pelo Teste de Dunnett. **Fonte:** Autoria própria (2016).

No teste da placa quente realizado após 60 minutos da administração, apenas a morfina apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) frente ao controle (Figura 2B). As médias de permanência na placa quente para o veículo, ESIM 50 mg/kg, ESIM 100 mg/kg e Morfina 10 mg/kg foram respectivamente: $2,2 \pm 0,3$; $2,0 \pm 0,5$; $1,9 \pm 0,3$ e $5,1 \pm 0,6$.

Efeito do Extrato de *Erythroxylum simonis* (ESIM) no Teste da Placa Quente

O animais tratados com o extrato de *Erythroxylum simonis* (ESIM) na dose de 100 mg/kg apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) no tempo de permanência dos animais na placa quente após 30 minutos da administração, apresentando uma média de $16,8 \pm 4,0$, valor próximo ao da droga padrão Morfina na dose 10 mg/Kg que apresentou uma média de permanência de $17,1 \pm 1,1$ (Figura 3A).

Entretanto, quando tratados com o mesmo extrato (ESIM) na dose de 50 mg/kg, após 30 minutos da administração, o tempo médio de permanência ($8,9 \pm 1,0$) não difere estatisticamente dos animais do grupo controle, que receberam apenas o veículo e apresentaram uma permanência de $6,8 \pm 1,3$ (Figura 3A).

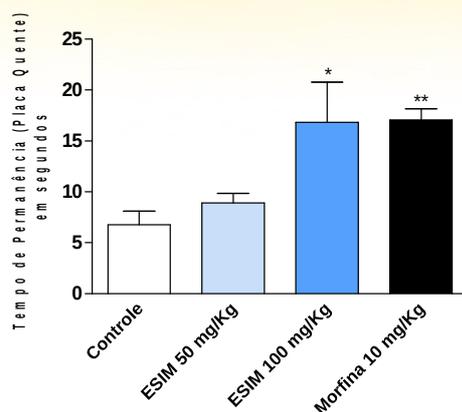
No teste da placa quente realizado após 60 minutos da administração, apenas a morfina apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) frente ao controle (Figura 3B). As médias de permanência na placa quente para o veículo, ESIM 50 mg/kg, ESIM 100 mg/kg e Morfina 10 mg/kg foram respectivamente: $2,1 \pm 0,3$; $3,8 \pm 0,7$; $4,0 \pm 1,3$ e $5,1 \pm 0,6$.

Figura 3. Efeitos do Extrato de *Erythroxylum simonis* nas doses de 50 mg/kg e 100 mg/kg no teste da placa quente.

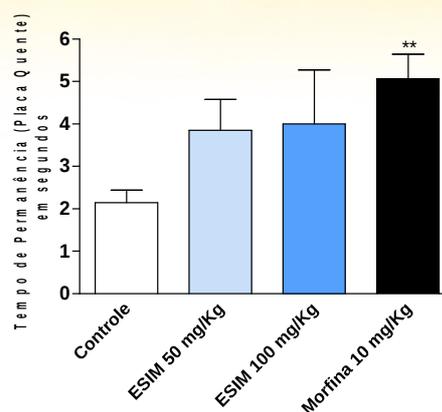
(83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br



(A)



(B)

Legenda: (A) após 30 minutos e (B) após 60 minutos da administração. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ comparando com o veículo (controle) pelo Teste de Dunnett. **Fonte:** Autoria própria (2016).

Esses resultados condizem com aqueles obtidos pelo teste da formalina nos quais os extrato EREV e ESIM na dose de 200 mg/kg apresentaram um efeito antinociceptivo de ação central. Indicam, ainda, a possibilidade de redução da dose mantendo o efeito desejado.

Embora o uso de analgésico central e periférico responda pela inibição do número de contrações provocadas por estímulos químicos que levam à dor, apenas os analgésicos centrais aumentam o tempo de resposta no teste da placa quente (SILVA et al., 2013). Assim, o teste da placa quente confirma o efeito inibitório da nocicepção por via central dos extratos EREV e ESIM na dose de 100 mg/kg. Nesse teste, o efeito máximo foi alcançado após 30 min da administração de ambos os extratos.

O teste da placa quente, que utiliza a temperatura como estímulo nociceptivo, é considerado sensível a fármacos que atuam em nível supraespinal de modulação da resposta dolorosa (YAKSH; RUDY, 1977 *apud* SOUSA et al., 2009), sugerindo uma ação modulatória do extrato. Dessa forma, os nociceptores (fibras C e A δ , principalmente) são estimulados após a ativação dos receptores vaniloides, especificamente os receptores do tipo VR-1, que possuem limiar de ativação em 43 °C, e os receptores do tipo VRL-1, que possuem limiar de ativação em 52 °C. Estes últimos são importantes na avaliação da resposta a estímulos térmicos nocivos, pois são responsáveis pela resposta em decorrência do aumento da temperatura (SILVA et al., 2013).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nas duas fases do teste da formalina, com os extratos EREV e ESIM na dose de 200 mg/kg, indicaram efeito antinociceptivo de ação central. Esse efeito foi

(85) 3522-3222
contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

confirmado para os extratos EREV e ESIM na dose de 100 mg/kg no teste da placa quente, sugere-se uma atividade antinociceptiva com grau de significância semelhante a da Morfina na dose 10 mg/kg, indicando igual eficácia porém uma potência inferior frente a droga padrão. Devem ser realizados outros estudos para uma melhor compreensão dos resultados de nocicepção.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULMALIK, I. A.; SULE, M. I.; MUSA, A. M.; YARO, A. H.; ABDULLAHI, M. I.; ABDULKADIR, M. F.; YUSUF, H. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory effects of ethanol extract of *Ficus iteophylla* leaves in rodents. **Afr J Tradit Complement Altern Med.**, vol. 8, n. 4, p. 462-466, 2011.

ALBUQUERQUE, C. H. **Constituintes químicos e atividade farmacológica de *Erythroxylum pulchrum* St. Hil. (Erythroxylaceae)**. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – LTF/CCS/UFPB, João Pessoa, 2013.

ARAÚJO, F. L. O. **Estudo dos efeitos antinociceptivos e antiinflamatórios de (O-Metil)-N-Benzoil Tiramina (Riparina I) de *Aniba riparia* (Nees) Mez (*Lauraceae*) em camundongos**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007. 123f.

BENEDITO, R. B. **Efeito antinociceptivo do monoterpeno (S)-(-)-Álcool perílico em camundongos**. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009. 83 f.

BRAZ, L. C. C.; ALMEIDA, R. S.; CAMPOS, I. C. P.; OLIVEIRA, F. J. C.; ROZENDO, A. S.; BARBOSA, V. O. ; TAVARES, D.; GUIMARAES, J. R.; MARTINS, T. D. N.; SANGLARD, D. A. Levantamento etnobotânico na região de Sumé, Cariri paraibano: bioprospecção e conservação de plantas utilizáveis em biofarmacologia. In: Encontro Nacional de Engenharia e Desenvolvimento Social, 2012, Natal - RN. O Brasil que se quer e os caminhos que se trilham, 2012.

EDDY, N. B.; LEIMBACH, D. Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 107, p. 385-393, 1953.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, n. 1, p. 103-14, 1987.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. **Princípios de Neurociência**. São Paulo: Manole, 2003.

LIMA, M. E.; FORTES-DIAS, C. L.; CARLINI, C. R.; GUIMARÃES, J. A. Toxinology in Brazil: A big challenge for a rich biodiversity. **Toxicon**, v. 56, p. 1084–1091, 2010.

LOIOLA, M. I. B. Simpósio - Flora fanerogâmica nordestina: diversidade, distribuição e potencial econômico. Universidade Regional do Cariri – URCA, **Cadernos de cultura e ciência**. v.2, n. 2, p. 15-16, 2007.

LUCAS FILHO, M. D. **Estudo fitoquímico de espécies do gênero *Erythroxylum* com potencial atividade vasodilatadora e inibidora da enzima conversora de angiotensina**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), UFOP, Ouro Preto, 2009. 139 f.

OLIVEIRA, S. L. **Fitoquímica de espécies de *Erythroxylum* do semiárido: isolamento e determinação estrutural de alcaloides tropânicos, flavonoides e diterpenos**. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – LTF/CCS/UFPB, João Pessoa, 2012.

RANDOLPH, B. C.; PETERS, M. A. Analgesic effectiveness of ketorolac compared to meperidine in the rat formalin test. **Anesth Prog.**, v. 44, n. 1, p. 11-16, 1997.

SILVA, F. D.; NOBREGA, F. F. F. Avaliação pré-clínica do potencial tóxico, neuroativo e/ou neuroprotetor de produtos provenientes de espécies do bioma Caatinga. In: XI Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Campina Grande, 2014, Campina Grande – PB.

SILVA, J. C.; SARAIVA, S. R. G. L.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. G.; ALMEIDA, J. R. G. S. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. **Rev. Bras. Farm.**, v. 94, n.1, p. 18-23, 2013.

SOARES, C. C.; MARQUES, T. M.; RIGOLIN, G. G.; NEIS, E.; FRIAÇA, A. M. V.; SILVA, A. S.; BARRETO, G. S.; LOPES, L. Atividade analgésica do extrato da *Pectis jangadensis* (S. Moore). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 19, n. 1A, p. 77-81, 2009.

SOUSA, O. V.; FIORAVANTE, I. A.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; CANESCHI, C. A. Investigação das atividades antinociceptiva e antiedematogênica do extrato etanólico das folhas de *Joannesia princeps* Vellozo. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, vol. 30, n. 1, p. 91-97, 2009.

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

ZANOLARI, B.; WOLFENDER, J.L.; GUILLET, D.; MARSTON, A.; QUEIROZ, E.F.; PAULO, M.Q.; HOSTETTMANN, K. On-line identification of tropane alkaloids from *Erythroxylum vacciniifolium* by liquid chromatography-UV detection-multiple mass spectrometry and liquid chromatography-nuclear magnetic resonance spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1020, p. 75-89, 2003.

