

Universidade Federal do Ceará

C. 572020
N. 117398
1-10/99

**ESTUDO FARMACOLÓGICO DE 1,8-CINEOL,
UM ÓXIDO TERPÊNICO PRESENTE EM ÓLEOS
ESSENCIAIS DE PLANTAS**

Flávia Almeida Santos

FC-00006265-6

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

TRAB
643-32342
1999

Fortaleza – Ceará
1999

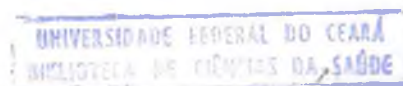
Universidade Federal do Ceará

**ESTUDO FARMACOLÓGICO DE 1,8-CINEOL,
UM ÓXIDO TERPÊNICO PRESENTE EM ÓLEOS
ESSENCIAIS DE PLANTAS**

Flávia Almeida Santos

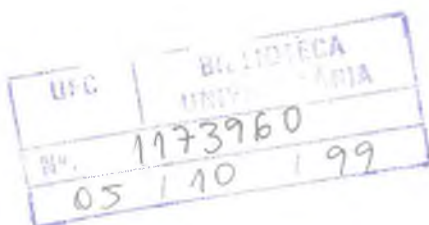
Tese submetida à coordenação do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Farmacologia.

Orientador: Prof. Vietla Satyanarayana Rao



Fortaleza – Ceará
1999

S235e Santos, Flávia Almeida Santos
Estudo Farmacológico de 1,8-Cineol, um Óxido
Terpênico presente em Óleos Essenciais de Plantas /
Flávia Almeida Santos. – Fortaleza, 1999. -
223p: il.
Orientador: Prof. Dr. Vietla Satyanarayana Rao.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal do
Ceará. Departamento de Fisiologia e Farmacologia.
1. Farmacologia. 2. 1,8-Cineol. I. Título
CDD 615.1



Esta tese foi submetida como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Doutor em Farmacologia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará e encontra-se a disposição dos interessados na Biblioteca do Centro de Ciências da Saúde da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta Tese é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética.


Flávia Almeida Santos

Tese aprovada com Louvor em 04 de junho de 1999

Prof. Dr. Vietla Satyanarayana Rao
(Orientador)

Prof. Dr. Aldo Angelo Moreira Lima

Prof. Dr. Marcus Raimundo Vale

Prof. Dr. Mohammed Saad Lahlou

Prof. Dr. Angelo Roberto Antonioli

Esta tese foi submetida como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Doutor em Farmacologia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará e encontra-se a disposição dos interessados na Biblioteca do Centro de Ciências da Saúde da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta Tese é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética.

Flávia Almeida Santos

Tese aprovada com Louvor em 04 de junho de 1999

Prof. Dr. Vietla Satyanarayana Rao
(Orientador)

Prof. Dr. Aldo Angelo Moreira Lima

Prof. Dr. Marcus Raimundo Vale

Prof. Dr. Mohammed Saad Lahlou

Prof. Dr. Angelo Roberto Antonioli

*“Não é suficiente que saibamos,
precisamos também aplicar.
Não é suficiente que tenhamos boas
Intenções, devemos também agir”*

Goethe

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

*“No coração do homem agitam-se muitos
·Pensamentos; a vontade do Senhor,
porém, é sempre a que permanece”
(Provérbios 19:21)*

*Ao meu orientador e amigo
Vietla Satyanarayana Rao*

*A minhas amigas Aurenívea, Regilane e
Luilma, fontes de apoio e companherismo*

AGRADECIMENTOS

Ao orientador e amigo Prof. Vietla Satyanarayana Rao, pelo estímulo intelectual e humano, a quem devo minhas conquistas profissionais e crescimento interior.

Ao Prof. Geraldo de Sousa Tomé e a sua filha e amiga Adriana Tomé nos trabalhos de análise histológica.

Ao prof. Dr. Aldo Ângelo e Profa. Dra. Gisela Camarão pelo apoio no decorrer do curso de Pós-Graduação.

Ao Prof. Dr. Marcus Vale e Profa. Dra. Glauce Viana pela disponibilidade na utilização de aparelhos em seus laboratórios.

Carinhosamente, o meu agradecimento aos amigos do Curso de Pós-Graduação e do Laboratório de Produtos Naturais, em especial a Aurenívea Maria, Regilane Matos, Luilma Gurgel, Angélica Luna, Adriano Rolim, Laura Paiva, Karina Moreira, Wlândia Gomes, Iran Barros, Geanne Matos, Juvênia Bezerra e Vilanir Rodrigues.

À Nísia Rodrigues pela colaboração técnica.

À Silvia Maria pela confiança, amizade e ajuda, sendo peça fundamental na conclusão deste trabalho.

Às secretárias Marta Célia Araújo e Joana Barbosa de Moura pela amizade e ajuda na resolução dos problemas burocráticos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

À CAPES pelo suporte financeiro.

4.2.2.1. Efeito do Composto 48/80 e Capsaicina	34
4.2.2.2. Efeito de Antagonistas de Mediadores Lipídicos	35
4.2.2.3. Efeito de Antihistamínicos, Antiserotoninérgicos e Estabilizadores de Membrana de Mastócitos	36
4.2.2.4. Efeito de Antagonista do Fator de Necrose Tumoral (TNF- α)	36
4.2.2.5. Efeito de Antagonista e Agonista da Adenosina	37
4.2.2.6. Efeito de Cineol Sistêmico	37
4.2.3. Degranulação de Mastócitos Peritoneias <i>in vitro</i>	37
4.3. ATIVIDADE PRÓ-NOCICEPTIVA DO CINEOL	38
4.3.1. Nocicepção Local induzida por Cineol em Camundongos	39
4.3.2. Caracterização Farmacológica da Nocicepção Local induzida por Cineol em Camundongos	39
4.3.2.1. Efeito do Composto 48/80	39
4.3.2.2. Efeito da Capsaicina	40
4.3.2.3. Efeito de Antihistamínicos, Antiserotoninérgicos e Estabilizadores de Membrana de Mastócitos	40
4.3.2.4. Efeito de Analgésico Opióide, Antagonista da Óxido Nítrico Sintase Neuronal e Antagonista do Receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA)	41
4.3.2.5. Efeito de Antagonistas e Agonistas da Adenosina	41
4.4. ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO CINEOL	42
4.4.1. Edema de Pata induzido por Carragenina em Ratos	42
4.4.2. Edema de Pata induzido por Dextrana em Ratos	42
4.4.3. Granuloma induzido por “Pellet” de Algodão em Ratos	43
4.4.4. Permeabilidade Capilar induzida por Ácido Acético em Camundongos	43

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas	xiv
Lista de Figuras	xvii
Lista de Tabelas	xx
RESUMO	xxiii
ABSTRACT	xxvi
1. INTRODUÇÃO	2
1.1. Generalidades	2
1.2. Óleos Essenciais	5
1.3. Terpenos	10
1.4. Cineol	13
1.5. Mastócitos	17
1.6. Adenosina	22
2. OBJETIVOS	27
3. MATERIAIS	29
3.1. Animais Experimentais	29
3.2. Reagentes e Drogas	29
3.3. Soluções Fisiológicas	31
3.4. Equipamentos	31
4. MÉTODOS	33
4.1. TOXICIDADE AGUDA DO CINEOL	33
4.2. ATIVIDADE PRÓ-INFLAMATÓRIA DO CINEOL	33
4.2.1 Edema de Pata induzido por Cineol em Ratos	34
4.2.2. Caracterização Farmacológica do Edema de Pata induzido por Cineol em Ratos	34

4.5. ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO CINEOL	44
4.5.1. Teste de Contorções Abdominais induzidas por Ácido Acético em Camundongos	44
4.5.2. Teste da Formalina em Camundongos	44
4.5.3. Teste da Placa Quente em Camundongos	45
4.5.4. Tempo de Sono induzido por Pentobarbital em Camundongos	46
4.5.5. Atividade Motora Espontânea em Camundongos	46
4.5.6. Temperatura Corporal em Ratos	47
4.6. ATIVIDADE ANTICONVULSIVANTE DO CINEOL	47
4.6.1. Convulsões induzidas por Pentilenotetrazol em Camundongos	47
4.6.2. Convulsões induzidas por Estricnina em Camundongos	48
4.6.3. Convulsões induzidas por Pilocarpina em Camundongos	48
4.6.4. Convulsões induzidas por Picrotoxina em Camundongos	49
4.6.5. Teste de Imobilização da Cauda em Camundongos	49
4.6.6. Teste do “Rotarod” em Camundongos	49
4.7. ATIVIDADE ANTIÚLCERA DO CINEOL	50
4.7.1. Lesão Gástrica induzida por Etanol em Ratos	50
4.7.2. Lesão Gástrica induzida por Indometacina em Ratos	51
4.7.3. Determinação do Muco da Mucosa Gástrica em Ratos	51
4.7.4. Avaliação da Atividade Antisecretória Ácida Gástrica em Ratos	52
4.7.5. Esvaziamento Gástrico em Ratos	53
4.8. ATIVIDADE ANTISECRETÓRIA DO CINEOL	53
4.8.1. Secreção Intestinal induzida por Toxina da Cólera em Ratos	53
4.9. EFEITO DO CINEOL NA TOXICIDADE INDUZIDA POR D-GALACTOSAMINA/LIPOPOLISSACARÍDEO EM CAMUNDONGOS	55

4.10. EFEITO DO CINEOL NA REPRODUÇÃO	57
4.10.1. Efeito sobre o Ciclo Estral	57
4.10.2. Efeito na Gravidez	58
4.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
5. RESULTADOS	60
5.1. TOXICIDADE AGUDA DO CINEOL	60
5.2. ATIVIDADE PRÓ-INFLAMATÓRIA DO CINEOL	60
5.2.1. Edema de Pata induzido por Cineol em Ratos	60
5.2.2. Caracterização Farmacológica do Edema de Pata induzido por Cineol em Ratos	61
5.2.2.1. Efeito do Composto 48/80 e Capsaicina	61
5.2.2.2. Efeito de Antagonistas de Mediadores Lipídicos	65
5.2.2.3. Efeito de Antihistamínicos, Antiserotoninérgicos e Estabilizadores de Membrana de Mastócitos	67
5.2.2.4. Efeito de Antagonista do TNF- α	67
5.2.2.5. Efeito de Antagonista e Agonista da Adenosina	70
5.2.2.6. Efeito de Cineol Sistêmico	70
5.2.3. Efeito do Cineol sobre a Degranulação de Mastócitos Peritoneias <i>in vitro</i>	70
5.3. ATIVIDADE PRÓ-NOCICEPTIVA DO CINEOL	76
5.3.1. Resposta Nociceptiva Local de Cineol e Composto 48/80 em Camundongos	76
5.3.2. Caracterização Farmacológica da Nocicepção Local induzida por Cineol em Camundongos	76
5.3.2.1. Efeito do Composto 48/80	76
5.3.2.2. Efeito da Capsaicina	77

5.3.2.3. Efeito de Antihistamínicos, Antiserotonérgicos e Estabilizadores de Membrana de Mastócitos	77
5.3.2.4. Efeito de Analgésico Opióide, Antagonista da Óxido Nítrico Sintase Neuronal e Antagonista do Receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA)	81
5.3.2.5. Efeito de Antagonistas e Agonistas da Adenosina	81
5.4. ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO CINEOL	84
5.4.1. Efeito do Cineol sobre o Edema de Pata induzido por Carragenina em Ratos	84
5.4.2. Efeito do Cineol sobre o Edema de Pata induzido por Dextrana em Ratos	84
5.4.3. Efeito do Cineol sobre o Gránuloma induzido por “Pellet” de Algodão em Ratos	85
5.4.4. Efeito do Cineol sobre o Aumento da Permeabilidade Capilar induzida por Ácido Acético em Camundongos	91
5.5. ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO CINEOL	94
5.5.1. Efeito do Cineol na Nocicepção induzida por Ácido Acético em Camundongos	94
5.5.2. Efeito do Cineol na Nocicepção induzida por Formalina em Camundongos	94
5.5.3. Efeito do Cineol na Nocicepção induzida pela Placa Quente em Camundongos	95
5.5.4. Efeito do Cineol no Tempo de Sono induzido por Pentobarbital em Camundongos	105
5.5.5. Efeito do Cineol na Atividade Motora Espontânea em Camundongos	105
5.5.6. Efeito do Cineol na Temperatura Corporal em Ratos	105

5.6. ATIVIDADE ANTICONVULSIVANTE DO CINEOL	110
5.6.1. Efeito do Cineol sobre as Convulsões induzidas por Pentilenotetrazol em Camundongos	110
5.6.2. Efeito do Cineol sobre as Convulsões induzidas por Estricnina em Camundongos	110
5.6.3. Efeito do Cineol sobre as Convulsões induzidas por Pilocarpina em Camundongos	110
5.6.4. Efeito do Cineol sobre as Convulsões induzidas por Picrotoxina em Camundongos	111
5.6.5. Efeito do Cineol no Teste de Imobilização da Cauda em Camundongos	111
5.6.6. Efeito do Cineol no Teste do “Rotarod” em Camundongos	111
5.7. ATIVIDADE ANTIÚLCERA DO CINEOL	119
5.7.1. Efeito do Cineol sobre a Lesão Gástrica induzida por Etanol em Ratos	119
5.7.2. Efeito do Cineol sobre a Lesão Gástrica induzida por Indometacina em Ratos	120
5.7.3. Efeito do Cineol sobre o Muco Gástrico em Ratos	128
5.7.4. Efeito do Cineol na Atividade Antisecretória Ácida Gástrica em Ratos	128
5.7.5. Efeito do Cineol sobre o Esvaziamento Gástrico em Ratos	133
5.8. ATIVIDADE ANTISECRETÓRIA DO CINEOL	136
5.8.1. Efeito do Cineol sobre a Secreção Intestinal induzida por Toxina da Cólera em Ratos	136
5.9. EFEITO DO CINEOL NA TOXICIDADE INDUZIDA POR D-GALACTOSAMINA/LIPOPOLISSACARÍDEO EM CAMUNDONGOS	139

5.10. EFEITO DO CINEOL NA REPRODUÇÃO	146
4.10.1. Efeito do Cineol sobre o Ciclo Estral em Ratos	146
4.10.2. Efeito do Cineol na Gravidez em Ratos	148
6. DISCUSSÃO	154
7. CONCLUSÕES	179
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	182

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	Ácido Acetilsalicílico
AINEs	Antiinflamatórios não-esteroidais
ADP	Difosfato de Adenosina
ALT	Alanino Amino Transferase
AST	Aspartato Amino Transferase
AMP	Monofosfato de Adenosina
ANOVA	Análise de Variância
ATP	Trifosfato de Adenosina
° C	Grau Centígrado
CAF	Cafeína
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEME	Central de Medicamentos
CETA	Cetamina
CETO	Cetotifeno
CGRP	Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina
CHA	N ₆ -Ciclohexiladenosina
CIMET	Cimetidina
CIN	Cineol
CIPRO	Ciprooptadina
cm	Centímetro
CMC	Mastócito do Tecido Conjuntivo
CPM	Clorpromazina
CONT	Controle
COX	Ciclooxigenase
CPA	N ₆ -Ciclopentiladenosina
CROMO	Cromoglicato de Sódio
DIF	Difenidramina
DL₅₀	Dose Letal 50 %

DPCPX	1,3-Dipropil-8-Ciclopentilxantina
Eq	Equivalente
E.P.M.	Erro Padrão da Média
g	Gramma
GABA	Ácido Gama-aminobutírico
GalN	Galactosamina
h	Hora
HE	Hematoxilina e Eosina
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
IFN	Interferon
INDO	Indometacina
5-HT	5-Hidroxitriptamina
i.m.	Intramuscular
i.p.	Intraperitoneal
Kg	Kilograma
L-GLUT	Ácido L-Glutâmico
L-NAME	L-Nitro Arginina Metil Éster
LPS	Lipopolissacarídeo
LT	Leucotrieno
M	Molar
min	Minuto
MET	Metisergida
mL	Mililitros
MMC	Mastócito da Mucosa
MOR	Morfina
N	Normal
n	Número
NAL	Naloxona
NDGA	Ácido Nordihidroguirético
NECA	5'-N-Etilcarboxiamidoadenosina

NGF	Fator de Crescimento Neuronal
7-NITRO	7-Nitroindazol
Nm	Nanômetro
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
ON	Óxido Nítrico
PAF	Fator de Agregação Plaquetária
PG	Prostaglandina
8-PT	8-Fenilteofilina
PTZ	Pentilenotetrazol
RNA_m	Ácido Ribonucleico Mensageiro
rpm	Rotação por Minuto
s.c.	Subcutâneo
Seg	Segundo
SNC	Sistema Nervoso Central
T	Tempo
TEOF	Teofilina
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TX	Tromboxano
U/L	Unidades por Litro
VIP	Peptídeo Intestinal Vasoativo
v.o.	Via Oral
µg	Microgramas
µL	Microlitros
%	Porcentagem

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS		PÁGINA
FIGURA 1 -	Estrutura química do cineol	16
FIGURA 2 -	Edema de pata induzido por cineol e composto 48/80 em ratos	62
FIGURA 3 -	Microfotografias de patas de ratos	63
FIGURA 4 -	Efeito do composto 48/80 e capsaicina sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos	64
FIGURA 5 -	Efeito de antagonistas de mediadores lipídicos sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos	66
FIGURA 6 -	Efeito de antihistamínicos, antiserotoninérgicos e estabilizadores de membrana de mastócitos sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos	68
FIGURA 7 -	Efeito de antagonista do TNF- α sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos	69
FIGURA 8 -	Efeito de 8-fenilteofilina e NECA sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos	72
FIGURA 9 -	Efeito do cineol sistêmico sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos	73
FIGURA 10 -	Efeito do cineol e composto 48/80 sobre a degranulação de mastócitos peritoneais <i>in vitro</i>	74
FIGURA 11 -	Microfotografias de mesentérios de ratos	75
FIGURA 12 -	Resposta nociceptiva local de cineol e composto 48/80 em camundongos	78
FIGURA 13 -	Efeito do composto 48/80 sobre a nocicepção local de cineol e composto 48/80 em camundongos	79
FIGURA 14 -	Efeito de antihistamínicos, antiserotoninérgicos e estabilizadores de membrana de mastócitos sobre a nocicepção local de cineol em camundongos	80

FIGURA 15 -	Efeito de morfina, 7-nitroindazol e cetamina sobre a nocicepção local de cineol em camundongos	82
FIGURA 16 -	Efeito de antagonistas e agonistas da adenosina sobre a nocicepção local de cineol em camundongos	83
FIGURA 17 -	Efeito da administração oral de cineol sobre o edema de pata induzido por carragenina em ratos	87
FIGURA 18 -	Efeito da administração oral do cineol no granuloma induzido por “pellet” de algodão em ratos	90
FIGURA 19 -	Efeito da administração oral de cineol sobre o aumento da permeabilidade capilar induzida por ácido acético em camundongos	93
FIGURA 20 -	Efeito da administração oral de cineol sobre as contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos	97
FIGURA 21 -	Efeito do cineol no teste da formalina em camundongos	99
FIGURA 22 -	Efeito do cineol e teofilina no teste da formalina em camundongos	101
FIGURA 23 -	Efeito do cineol e morfina no teste da placa quente em camundongos	103
FIGURA 24 -	Efeito do cineol sobre a antinocicepção da morfina no teste da placa quente em camundongos	104
FIGURA 25 -	Efeito do cineol e clorpromazina sobre o tempo de sono induzido por pentobarbital em camundongos	107
FIGURA 26 -	Efeito do cineol nas convulsões induzidas por pentilenotetrazol em camundongos	113
FIGURA 27 -	Efeito do cineol no tempo de imobilização no teste de suspensão da cauda em camundongos	118
FIGURA 28 -	Efeito do cineol e cimetidina nas lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em ratos	122
FIGURA 29 -	Aspecto macroscópico de estômagos tratados com etanol absoluto	123

FIGURA 30 -	Efeito de drogas modulatórias da adenosina e óxido nítrico nas lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em ratos	124
FIGURA 31 -	Efeito do cineol e cimetidina nas lesões gástricas induzidas por indometacina em ratos	126
FIGURA 32 -	Aspecto macroscópico de estômagos tratados com indometacina	127
FIGURA 33 -	Efeito da administração oral do cineol e cimetidina sobre o volume do suco gástrico após a ligação pilórica em ratos	131
FIGURA 34 -	Efeito da administração oral do cineol e cimetidina sobre a acidez gástrica total após a ligação pilórica em ratos	132
FIGURA 35 -	Efeito da administração oral do cineol e atropina na retenção do volume gástrico em ratos	135
FIGURA 36 -	Efeito do cineol sobre a secreção intestinal induzida pela toxina da cólera em ratos	138
FIGURA 37 -	Microfotografias de fígados de camundongos	144
FIGURA 38 -	Microfotografias de fígados de camundongos	145

LISTA DE TABELAS

TABELAS	PÁGINA
TABELA 1 - Efeito do cineol e indometacina no edema de pata induzido por carragenina em ratos	86
TABELA 2 - Efeito do cineol e ciproptadina no edema de pata induzido por dextrana em ratos	88
TABELA 3 - Efeito do cineol e indometacina no granuloma induzido por “pellet” de algodão em ratos	89
TABELA 4 - Efeito do cineol e indometacina no aumento da permeabilidade capilar induzida por ácido acético em camundongos	92
TABELA 5 - Efeito do cineol e ácido acetilsalicílico no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos	96
TABELA 6 - Efeito do cineol no teste da formalina em camundongos	98
TABELA 7 - Efeito do cineol e teofilina no teste da formalina em camundongos	100
TABELA 8 - Efeito do cineol e morfina no teste da placa quente em camundongos	102
TABELA 9 - Efeito do cineol e clorpromazina no tempo de sono induzido por pentobarbital em camundongos	106
TABELA 10 - Efeito do cineol na frequência de locomoção em camundongos	108
TABELA 11 - Efeito do cineol sobre a temperatura corporal de ratos	109
TABELA 12 - Efeito do cineol nas convulsões induzidas por pentilenotetrazol em camundongos	112

TABELA 13 -	Efeito do cineol nas convulsões induzidas por estriçnina em camundongos	114
TABELA 14 -	Efeito do cineol nas convulsões induzidas por pilocarpina em camundongos	115
TABELA 15 -	Efeito do cineol nas convulsões induzidas por picrotoxina em camundongos	116
TABELA 16 -	Efeito do cineol no tempo de imobilização no teste de suspensão da cauda em camundongos	117
TABELA 17 -	Efeito do cineol nas lesões gástricas induzidas por etanol em ratos	121
TABELA 18 -	Efeito do cineol e cimetidina nas lesões gástricas induzidas por indometacina em ratos	125
TABELA 19 -	Efeito do cineol sobre o muco gástrico em ratos	129
TABELA 20 -	Efeito do cineol e cimetidina sobre o volume do suco gástrico e acidez gástrica total após ligação pilórica em ratos	130
TABELA 21 -	Efeito do cineol e atropina sobre o esvaziamento gástrico em ratos	134
TABELA 22 -	Efeito do cineol sobre a secreção intestinal induzida pela toxina da cólera em ratos	137
TABELA 23 -	Efeito do cineol e dexametasona sobre a toxicidade induzida por Galactosamina/LPS em camundongos	141
TABELA 24 -	Efeito do óxido nítrico sobre a toxicidade induzida por Galactosamina/LPS em camundongos	142
TABELA 25 -	Efeito do cineol sobre o peso dos fígados e níveis de transaminases e malonaldeído em camundongos	143
TABELA 26 -	Efeito do cineol sobre o ciclo estral em ratos	147
TABELA 27 -	Efeito do cineol sobre o peso corpóreo de fêmeas tratadas nos dias 1 a 7 da gravidez	149
TABELA 28 -	Efeito do cineol sobre o peso corpóreo de fêmeas tratadas nos dias 8 a 15 da gravidez	150

TABELA 29 -	Efeito do cineol em ratos tratados nos dias 1 a 7 da gravidez	151
TABELA 30 -	Efeito do cineol em ratos tratados nos dias 8 a 15 da gravidez	152

RESUMO

O 1,8-cineol (cineol), um composto terpênico presente em vários óleos essenciais de plantas pertencentes às espécies *Eucalyptus*, *Rosemary* e *Psidium* foi investigado quanto aos seus efeitos farmacológicos locais e sistêmicos, em ratos e camundongos. Na avaliação de seus efeitos locais observamos a sua capacidade de induzir edema inflamatório e nocicepção local, após injeção subplantar, assim como a caracterização farmacológica destes efeitos. Enquanto para os seus efeitos sistêmicos avaliamos a atividade antiinflamatória (edema de pata induzido por carragenina, granuloma induzido por “pellet” de algodão, permeabilidade vascular induzida por ácido acético), analgésica (contorções abdominais induzidas por ácido acético, teste da formalina), antiúlcera (lesões gástricas induzidas pelo álcool absoluto e indometacina), antissecretória (secreção ácida induzida pela ligação pilórica e acúmulo de fluido intestinal induzido pela toxina da cólera), sedativa e anticonvulsivante (teste de suspensão da cauda, teste de convulsões químicas), o efeito protetor contra a mortalidade induzida por GaLN/LPS, a toxicidade aguda e o efeito na reprodução de ratos (efeito sobre o ciclo estral e gravidez). A injeção subplantar de cineol, nas doses de 5, 10 e 20 μL em ratos e nas doses de 10 e 20 μL em camundongos, produziu um edema e uma nocicepção dose dependente, respectivamente. O edema inflamatório induzido por cineol 20 μL foi abolido no grupo de ratos depletados de seus grânulos de mastócitos pelo composto 48/80 mas não pela capsaicina, um composto que depleta neuropeptídeos de terminais nervosos sensoriais. O edema de pata induzido por cineol foi marcadamente inibido pela ciproheptadina (5 mg/Kg), um antagonista dos receptores H_1 da histamina e 5-HT_2 . Os antagonistas de mediadores lipídicos, dexametasona (0,5 mg/Kg), fenilbutazona (200 mg/Kg), indometacina (2 mg/Kg) e o antagonista de $\text{TNF-}\alpha$, talidomida (15 mg/Kg), foram também efetivos na inibição do edema de pata induzido por cineol, enquanto o inibidor de lipoxigenase, NDGA (75 mg/Kg) e o antagonista do PAF, WEB 2170 (10 mg/Kg), foram inefetivos. NECA (0,1 mg/Kg), um agonista não seletivo de receptores da adenosina A_1/A_2 , foi efetivo em inibir o edema de pata.

Além disso, cineol nas concentrações de 0,56; 1,67 e 5,58 mM causou a degranulação de mastócitos peritoneais de ratos *in vitro*, de maneira similar ao composto 48/80 (0,05; 0,16 e 0,48 μ M), a qual pode ser bloqueada por NECA (3,24 μ M). O efeito nociceptivo de cineol foi quase que completamente inibido em camundongos pré-tratados com ciproheptadina (5 mg/Kg) e pelo NECA (0,01 mg/Kg). Essas observações sugerem um papel chave para os mastócitos e adenosina no mecanismo do edema e nocicepção local induzidos por cineol.

A administração sistêmica de cineol evidenciou efeitos antiinflamatório e antinociceptivo em ratos e camundongos. Um efeito antiinflamatório significativo foi evidente na dose oral de 400 mg/Kg, nos modelos de edema de pata induzido por carragenina, granuloma induzido por “pellet” de algodão (ratos) e permeabilidade vascular induzida por ácido acético (camundongos). Cineol inibiu as contorções abdominais induzidas por ácido acético, assim como a nocicepção induzida pela formalina em camundongos. Em adição, cineol preveniu as lesões gástricas induzidas pelo álcool absoluto e indometacina nas doses variando de 100 a 400 mg/Kg. Um efeito antissecretório de cineol (400 mg/Kg) foi observado nos modelos experimentais de secreção ácida induzida pela ligação pilórica e acúmulo de fluido intestinal induzido pela toxina da cólera em ratos. Cineol, na mesma dose, ofereceu completa proteção contra a mortalidade induzida por GaLN/LPS e a lesão hepática em camundongos. Além disso, cineol (400 mg/Kg) demonstrou propriedades sedativa e anticonvulsivante em camundongos, observadas pelo aumento no tempo de imobilização no teste de suspensão da cauda e proteção contra a mortalidade no teste de convulsão induzida pelo pentilenotetrazol. Alguns dos efeitos sistêmicos de cineol, como sedação, analgesia e atividade anticonvulsivante simularam os efeitos produzidos pela adenosina endógena. Contudo, os efeitos de cineol não foram revertidos pelo pré-tratamento dos animais com metilxantinas, cafeína e teofilina; ou por 8-fenilteofilina, um antagonista dos receptores da adenosina A₁/A₂. O que indica que é improvável que a adenosina endógena tenha um papel nos efeitos produzidos por cineol.

Cineol manifestou baixo potencial tóxico. A DL₅₀ (via oral) em camundongos foi de $3,85 \pm 0,33$ g/Kg. Cineol não afetou o ciclo ovulatório em ratos, como também não induziu teratogenicidade. Entretanto, cineol (400 mg/Kg) causou discreta inibição do índice de gravidez e também reduziu o peso fetal apenas quando administrado nos dias 1 a 7 da gravidez em ratos. Alguns dos efeitos farmacológicos do cineol como sedação, analgesia e atividade anticonvulsivante observados neste estudo, assemelham-se àqueles exercidos pelos óleos essenciais brutos de espécies de *Psidium* que contém grande quantidade de cineol.

Cineol exibe baixo potencial tóxico; Contudo manifestou discreta sedação com a dose de 400 mg/Kg, via oral, mas não evocou ataxia ou incoordenação motora, indicando ausência de toxicidade neuronal. Cineol demonstrou atividade pró-inflamatória e pró-nociceptiva local onde os mastócitos e a adenosina exercem um papel chave. A administração sistêmica de cineol exerce efeito antiinflamatório, antinociceptivo, sedação e atividade anticonvulsivante, porém a adenosina endógena parece não participar nestas ações. Cineol é gastroprotetor possivelmente por reduzir a acidez gástrica e aumentar o muco gástrico. Ele exerce efeito antissecretório que pode ter implicações no tratamento da úlcera gástrica e diarreia. Cineol oferece proteção contra a hepatite tóxica induzida por GaLN/LPS possivelmente pela capacidade de inibir citocinas inflamatórias e não demonstra efeito adverso na reprodução de ratos fêmeas.

ABSTRACT

1,8-cineole (cineole), a terpene compound present in various essential oils of plants that belong to *Eucalyptus*, *Rosemary* and *Psidium* species was investigated for its local and systemic pharmacological effects in rats and mice. In the evaluation of local effects, we verified its capacity to induce inflammatory edema and local nociception following the subplantar injection and as well the pharmacological characterization of these effects. While establishing systemic effects we evaluated cineole for a possible anti-inflammatory activity in the animal models of carrageenan-induced hind-paw edema, cotton pellet-induced granuloma and acetic acid induced-vascular permeability; analgesic activity in acetic acid-induced abdominal constrictions and formalin-induced nociceptive tests; antiulcer effect against ethanol and indomethacin-induced gastric lesions; antisecretory effect on gastric acid secretion in pylorus ligated rats and against cholera toxin-induced intestinal fluid accumulation; sedative and anticonvulsant effects in tail suspension and chemical seizures tests in mice as well as its protection against mortality in GalN/LPS-induced sepsis in mice. Besides, we observed the effects of cineole on rat reproduction (estrus cycle, nidation and pregnancy) and established its acute toxicity. Subplantar injection of cineole at doses of 5, 10, and 20 μl in rats and at doses of 10 and 20 μl in mice produced a dose-related inflammatory edema and nociception, respectively. The inflammatory edema response-induced by 20 μl of cineole was found to be completely abolished in the group of rats depleted of their mastocyte granules by compound 48/80 and not by capsaicin, a compound that depletes neuropeptides from sensory nerve endings. The paw edema response to cineole was also markedly inhibited by cyproheptadine (5 mg/kg), a histamine H₁ and 5-HT₂ receptor antagonist. The lipid mediator antagonists, dexamethasone (0.5 mg/kg), phenylbutazone (100 mg/kg) and indomethacin (5 mg/kg) and the TNF antagonist, thalidomide (15 mg/kg) were also found to be effective in the inhibition of paw edema induced by cineole whereas the lipoxygenase inhibitor, NDGA (75 mg/kg) and the PAF antagonist WEB 2170 (10 mg/Kg) were

ineffective. NECA (0.1 mg/Kg), a non-selective adenosine A₁/A₂ receptor agonists was also effective in the inhibition of paw edema. Furthermore, cineole at a concentrations of 0.56, 1.67 and 5.58 mM caused degranulation of rat peritoneal mast cells *in vitro*, in a manner similar to compound 48/80 (0.05, 0.16, 0.48 μM) which could be blocked by NECA (3.24 μM). The nociceptive effect of cineole was almost absent in mice pretreated with cyproheptadine (5 mg/kg) and by NECA (0,01 mg/kg). These observations suggest a key role for mast cell and adenosine in the mechanism of cineole-induced local edema and nociception.

Systemic administration of cineole evidenced anti-inflammatory and antinociceptive effects in rats and mice. Significant anti-inflammatory effect was evident at an oral dose of 400 mg/kg in the models of carrageenan-induced rat hind-paw edema, cotton pellet-induced granuloma (rats) and acetic acid induced vascular permeability (mice). Cineole inhibited acetic acid-induced abdominal constrictions as well as formalin-induced nociception in mice. In addition, cineole prevented alcohol (absolute) and indomethacin-induced gastric lesions at doses varying from 100 to 400 mg/kg. An antisecretory effect of cineole (400 mg/kg) was also evident in the experimental models of pyloric ligation-induced gastric acid secretion and cholera toxin-induced intestinal fluid accumulation in rats. Cineole at the same dose offered complete protection against GalN/LPS-induced mortality and liver damage in mice. Besides, cineole (400 mg/kg) demonstrated sedative and anticonvulsant properties in mice, evidenced by increase in immobilization time in tail suspension test and protection against mortality in pentylenetetrazol-induced convulsions test. Some of the systemic effects of cineole, such as sedation, analgesia and anticonvulsant activities simulated the effects produced by exogenous adenosine. However, these effects of cineole were not reversed by pretreatment of animals with methylxanthines, caffeine and theophylline or by 8-phenyltheophylline, an antagonist of adenosine A₁/A₂ receptors which indicate that it is unlikely that endogenous adenosine has a role in the effects produced by cineole.

Cineole manifested low toxic potential. Its oral LD₅₀ in mice was found to be 3.85 ± 0.33 g/kg. Neither it adversely affected ovulatory cycle in rats nor it

induced teratogenicity. Nevertheless cineole (400 mg/Kg) caused slight inhibition on pregnancy index and also attenuated fetal weights, only when administered on days 1 to 7 of pregnancy in rats. Some of the pharmacological effects, such as sedation, analgesia and anticonvulsant effects, observed in this study with cineole resembled those exerted by crude essential oils of *Psidium* species that contained large amounts of cineole.

Cineole exhibited low toxicity potential; Nevertheless manifested a weak sedative effect at the oral dose of 400 mg/Kg but did not evoke ataxia or motor incoordination indicating absence of neuronal toxicity. Cineole demonstrated local pro-inflammatory and pro-nociceptive effects wherein mast cells and endogenous adenosine seems to play a key role. Systemic administration of cineole produced anti-inflammatory, antinociceptive, sedation, anticonvulsant effects. However, endogenous adenosine does not seem to participate in these effects. Cineole possibly is gastroprotective through a reducting gastric acid secretion and or by an increase of gastric mucus. Its antisecretory effect may have therapeutic implications in conditions such as gastric ulcer and diarrhoea. Cineole offers protection against GalN/LPS-induced toxic hepatitis possibly through its capacity to inhibit inflammatory cytokines. No adverse effects of cineole was observed on reproductive parameters of female rats.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Generalidades

As plantas têm fornecido um grande número de agentes clinicamente úteis e têm considerado potencial como fontes de novas drogas. Estima-se que existam aproximadamente duzentas e cinquenta mil espécies de plantas, várias delas sob o perigo de extinção no próximo século.

Uma das razões para esta extinção é a sua coleção indevida com propósitos medicinais. No futuro, os extratos de plantas medicinais serão obtidos de plantas cultivadas em laboratório ou a partir de cultura de células de plantas. Estas fontes alternativas oferecem um número de benefícios incluindo uniformidade do produto que fica livre dos fatores climáticos, da variação sazonal, doenças e restrições políticas.

A pesquisa com cultura de células de plantas tem resultado em um maior conhecimento dos caminhos de biossíntese e das enzimas que atuam nestes caminhos (Kutchn, 1993).

A identificação dos genes responsáveis por enzimas específicas de biossíntese torna agora possível a manipulação genética de plantas. O aumento na expressão de genes pode resultar na produção de elevados níveis de compostos secundários desejados. Plantas transgênicas estão sendo produzidas e esta biotecnologia está no limiar de descobertas excitantes, algumas das quais poderão ser exploradas para o desenvolvimento de novas drogas e ferramentas farmacológicas (Phillipson, 1994).

Aproximadamente 20.000 espécies de plantas são utilizadas na medicina tradicional, sendo a maioria das espécies não avaliadas quimicamente ou farmacologicamente. É bem conhecido que as plantas produzem uma grande variedade de moléculas químicas e por isto têm um grande espectro de atividade farmacológica. Técnicas modernas de farmacologia utilizam ensaios para ligação específica de compostos a receptores ou enzimas, e tais ensaios podem ser

utilizados para orientar o fracionamento da complexa mistura de agentes químicos presentes nos extratos de plantas. O rápido crescimento da informática e uma combinação de técnicas químicas, biológicas e moleculares podem ser usadas para o isolamento e produção de novas drogas. Esses estudos oferecem um caminho lógico para a descoberta de novas drogas e para a identificação de moléculas modelo e desenvolvimento de análogos (Cragg et al, 1997).

A pesquisa com produtos naturais pode ser guiada pelo conhecimento etnofarmacológico. Existe uma correlação entre a aplicação clínica de um composto puro e o uso tradicional de seu extrato bruto. Entre 117 drogas botânicas revisadas por Farnsworth et al (1985) 86 substâncias (73,5 %) possuíam o mesmo ou um relacionado uso com aqueles das plantas dos quais foram descobertas. Um fato interessante é que na metade desses casos a fonte botânica era proveniente de área tropical. Contudo, a descoberta do plaquitaxel (taxol) (Slechenmyer & Von Hoff, 1990), foi feita através de uma escolha aleatória e que não teve base na medicina popular (Moerman, 1986). Outro exemplo, foi a descoberta da galantamina, um alcalóide isolado de *Galanthus worowniie* e que agora está sendo sintetizado (Harvey, 1995). A galantamina é um inibidor competitivo, reversível da acetilcolinesterase. Seu efeito benéfico sobre a memória tem sido demonstrado em ratos e camundongos e em ensaios clínicos na doença de Alzheimer (Rainer et al, 1997).

Outra descobertas baseadas na etnofarmacologia nos últimos anos foi a de artemisina, uma lactona da *Artemisia annua* com marcada atividade terapêutica contra a malária (*P. vivax*) e contra cepas de *P. falciparum* resistentes a cloroquina (Klayman, 1985), da quinina, um alcalóide da chinchona com atividade antimalárica contra *P. falciparum* resistente a cloroquina (Wirima et al., 1990), dos antiinflamatórios curcuminóides de *Curcuma longa*, inibidores das enzimas lipooxigenase e ciclooxigenase (Huang et al, 1991) e sequestradores de radicais livres (Elizabeth & Rao, 1990; Ruby et al, 1998). Em adição, ternatina de *Egletes viscosa* e trans-desidrocrotonina de *Croton cajucara* são outros exemplos de substâncias derivadas de plantas com base no seu uso popular.

Ternatina e trans-desidrocrotonina são efetivos antiinflamatórios (Souza et al, 1992; Carvalho et al. 1996).

O conhecimento etnofarmacológico serve como guia para novos caminhos e novas indicações terapêuticas. Estudos com a capsaicina, extraída da *Capsicum frutescens*, assim como a resiniferatoxina, têm servido de ajuda para a utilização destes compostos analgésicos como moléculas modelo para a criação de análogos que agem nos receptores vanilóides (Appendino & Szallasi, 1997). Δ^9 -tetrahydrocannabinol, o principal canabinóide psicoativo da *Cannabis sativa* serviu como molécula modelo para o desenvolvimento do composto sintético dronabinol, que pode ser usado como um antiemético e para estimular o apetite prevenindo a perda de peso em pacientes adéticos (Beal et al, 1995; McChoulam et al, 1991).

Constituintes derivados de plantas têm sido uma fonte valiosa de ferramentas para a avaliação de mecanismos fisiológicos e bioquímicos. Podem ser citados como exemplo os ésteres de forbol, um grupo de diterpenos inicialmente isolados de espécies de *Croton*, que tem se mostrado valioso material no estudo das funções biológicas, propriedades e distribuição da proteína quinase C e na carcinogênese química (Nishizuka, 1986; Berridge, 1993), forskolin, um diterpeno isolado das raízes de *Coleus forskolii* (Bhat et al, 1977; Abe e Karaki, 1989) que ativa de forma específica e reversível a adenilil ciclase, é útil no estudo do papel do AMPc em processos fisiológicos ou farmacológicos (Seamon et al, 1981; Daly, 1981) a rianodina, um alcalóide isolado da raiz e caule de *Ryania speciosa*, importante na identificação e caracterização dos canais de cálcio do retículo sarcoplasmático, principalmente no músculo esquelético e cardíaco (Meissner, 1986), a tapsigargina e lactonas sesquiterpênicas relacionadas, isoladas da raiz de *Thapsia garganica*, que agem como inibidores da Ca^{+2} -ATPase do retículo sarcoplasmático (Thastrup et al, 1987).

1.2. Óleos Essenciais

Óleos essenciais são constituintes orgânicos voláteis que contribuem para o sabor e fragância das plantas (Tisserand & Balacs, 1995). O óleo essencial muitas vezes existe na forma livre, como no caso das rosas, ou ocasionalmente na forma de glicosídeos que podem ser decompostos por enzimas, como nas amêndoas amargas. Toda a planta pode ser aromática ou o odor pode residir em uma ou mais partes como flores, folhas, raízes, caule, fruto ou semente. São formados em células especiais, glândulas ou ductos localizados em um órgão particular ou distribuídos em várias partes da planta (Chopra et al, 1982).

O método mais utilizado para a obtenção de óleos essenciais de plantas aromáticas é a destilação pelo vapor. De acordo com este método, o óleo essencial presente na planta, é vaporizado e então condensado por resfriamento. O produto é uma mistura complexa de compostos aromáticos, alguns coloridos e frequentemente bioativos (Tisserand & Balacs, 1995). Quimicamente são uma combinação de substâncias como terpenos, sesquiterpenos, fenóis, álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas, compostos nitrogenados e sulfurados (Chopra et al, 1982).

A função destas substâncias em diferentes partes da planta não é bem esclarecida. A fragância em flores atrai insetos que auxiliam na polinização. A presença de óleos voláteis na casca das plantas podem protegê-las contra o ataque de insetos. Outro papel é na regulação da transpiração nas plantas (Chopra et al, 1982; Haagen-Smith, 1972).

Os óleos essenciais são largamente utilizados na indústria como aromatizantes para a preparação de perfumes, sabões, desinfetantes e cosméticos, assim como na indústria alimentícia (Freise, 1935; Jacobs, 1948; Le Bourhis, 1968, 1970; Le Bourhis & Soene, 1973; Le Moan, 1973; Itokawa et al, 1980, 1981 a e b, 1985, 1987, 1988; Craveiro et al, 1981; De Vinvenzi et al, 1996). São empregados também para mascarar odores desagradáveis em ambientes de trabalho, e instalações sanitárias, além de serem também usados como solventes

e como insumos em produtos das indústrias de plástico, tintas, borracha, inseticidas e outras. Outros componentes têm propriedades farmacológicas e são usados na composição de medicamentos (Craveiro et al, 1981; Chopra et al, 1982)

Um óleo volátil pode conter dezenas de compostos químicos, mas com um ou dois componentes maiores, que são, geralmente, responsáveis por sua toxicologia e farmacologia, estando a maior parte presente em concentrações menores que 1%. Em alguns casos, estes componentes menores também figuram a ação de um óleo, por exemplo, o bergapteno, é o que torna o óleo de *Citrus bergamia* extremamente fototóxico, sendo encontrado em níveis de aproximadamente 0,3% (Tisserand & Balacs, 1995).

Os componentes químicos presentes em óleo essenciais podem ser divididos em três principais grupos: hidrocarbonetos, compostos oxigenados e compostos sulfurados.

A principal categoria de compostos são os hidrocarbonetos, estruturas que contém apenas carbono e hidrogênio. A partir dos hidrocarbonetos a planta produz os componentes oxigenados, os quais constituem a segunda maior categoria. Em alguns óleos essenciais, como o de *Pinus pumilio*, os hidrocarbonetos predominam e somente pouca quantidade de constituintes oxigenados estão presentes. Em outros, como o de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), os maiores constituintes consistem de compostos oxigenados. Poucos óleos essenciais possuem constituintes sulfurados (Tisserand & Balacs, 1995).

Os terpenos são hidrocarbonetos que possuem uma unidade básica, o isopreno [$\text{CH}_3\text{C}(\text{CH}_2)\text{CH}_2\text{CH}_2$]. Os monoterpenos são constituídos de duas unidades de isopreno, assim são denominados porque simbolizam a unidade terpênica básica encontrada na natureza (por exemplo, limoneno, pineno, cimeno, mirceno). Os sesquiterpenos são compostos de três unidades de isopreno, dentre eles encontramos o bisaboleno, cariofileno e humuleno. Os monoterpenos são

mais comuns nos óleos essenciais que os sesquiterpenos (Tisserand & Balacs, 1995).

O mais válido grupo de derivados terpênicos é representado pelo álcoois, que são usualmente baseados nos monoterpenos. Linalol e geraniol são álcoois monoterpenos. Raramente, os álcoois das plantas são baseados em sesquiterpênicos. O santalol (*Santalum album*) e os fusanolol (*Eucarya spicata*) são exemplos de álcoois sesquiterpênicos (Tisserand & Balacs, 1995).

Os aldeídos são considerados álcoois primários parcialmente oxidados. Exemplos são o citral (*Cymbopogon citratus*; capim-santo) e citronelal (*Eucalyptus citriodora*; eucalipto). Aldeídos possuem um fraco odor de frutas e podem causar irritação da pele e reações alérgicas (Tisserand & Balacs, 1995).

As cetonas são produzidas pela oxidação de álcoois secundários, sendo estruturalmente similares aos aldeídos. São estáveis, não sofrem oxidação facilmente e são amplamente exploradas em remédios para o trato respiratório superior (mucolítico) e preparados para a pele (citofiláticos). Exemplos são a fenchona (*Foeniculum vulgare*), cânfora (*Lippia alnifolia*; alecrim de vaqueiro), tujona (*Artemisia vulgaris*; artemisia), pulegona (*Mentha pelugium*; poejo) e carvona (*Carum carvi*; alcaravia) (Craveiro et al, 1981; Tisserand & Balacs, 1995).

Os ésteres são produzidos pelo álcool terpênico correspondente e um ácido orgânico, altos níveis são alcançados na maturidade do fruto/planta ou na floração. São caracteristicamente antifúngicos, sedativos e podem ser poderosos agentes espasmolíticos. Costumam ser perfumados e muitas vezes seu cheiro lembra o de certas frutas. São comumente usados na reconstituição de aromas e sabores de frutas. Em bergamota (*Citrus bergamia*), o linol é convertido em acetato linalílico; em *Mentha piperita*, o mentol é convertido para acetato de metil (Tisserand & Balacs, 1995).

Os fenóis são compostos bastante ativos quimicamente, e por isto podem provocar irritação. Dentre os fenóis mais comuns temos o anetol, metil eugenol, carvacrol, chavicol, cresol, eugenol e timol. O timol e carvacrol são os mais

fortes agentes antibacterianos entre todos os compostos terpênicos (Craveiro et al. 1981; Tisserand & Balacs, 1995).

Óxidos orgânicos são raros, altamente reativos e se decompõem facilmente em altas temperaturas e a exposição prolongada ao ar ou água. O mais importante óxido encontrado em óleos essenciais é o cineol, o qual existe em duas formas, 1,4-cineol e 1,8-cineol, sendo o segundo mais abundante, também é conhecido como eucaliptol quando obtido do óleo de eucalipto. Dentre outros óxidos temos, óxido de bisabolol, óxido de bisabolone, óxido de cariofileno e o óxido de linalol (Tisserand & Balacs, 1995).

O exemplo típico de peróxido é o tóxico ascaridol, encontrado no óleo de Velame de cheiro (*Croton mucronatus*). Poucos outros peróxidos existem em óleos essenciais (Craveiro et al, 1981; Tisserand & Balacs, 1995).

Lactonas são ésteres cíclicos, pouco voláteis, os quais podem ser moléculas simples ou complexas, como o bergapteno (*Citrus bergamia*), que pode aumentar o efeito de causar queimaduras pelos raios UV na pele. Costuslactona (*Saussurea costus*) tende a provocar sensibilização da pele com a ajuda dos raios UV. Dentre outras lactonas temos alantolactona, cumarina, xantotoxina, costuslactona (Tisserand & Balacs, 1995).

Os ácidos são raros nos óleos essenciais, dentre eles os mais comuns: ácido benzóico, ácido fenilacético, ácido hidrociânico, ácido ciânico (Tisserand & Balacs, 1995).

Os furanos são estruturas oxigenadas também pouco encontradas em óleos essenciais. O mentofurano é encontrado no óleo de menta. Dentre outros temos dihidrobenzofurano e ligustilide (Tisserand & Balacs, 1995).

Compostos como os éteres são raros. O óleo de *Pandanus odoratissimus* tem como maior constituinte o o-metil-beta-feniletil eter (Tisserand & Balacs, 1995).

Os componentes sulfurados são reativos, não derivados de terpenos ou sesquiterpenos e geralmente com forte odor desagradável. O dialil disulfeto é um

composto sulfúrico típico do óleo de alho (*Allium sativum*) (Tisserand & Balacs, 1995).

Os óleos voláteis são combinações de uma diversidade de compostos químicos como terpenos, sesquiterpenos, fenóis, álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas, compostos nitrogenados e sulfurados (Chopra et al, 1982; Lavabre, 1993). Devido a sua complexa composição, os óleos essenciais demonstram uma variedade de ações farmacológicas, tornando-os potenciais fontes para o desenvolvimento de novas drogas.

A atividade antimicrobiana foi documentada para vários óleos essenciais, dentre eles, o de *Mentha piperita*, *Achillea fragantissima*, *Melaleuca leucadendron*, *Melaleuca alternifolia*, *Althea rosea* e *Cymbopogon citratus*, pela presença de componentes como timol, carvacrol, eugenol, 1,8-cineol, linalol, terpineol, pineno, cariofileno e citral (Lemos et al, 1990; Barel et al, 1991; Jedlickova, 1992; Shapiro et al, 1994; Mahmound, 1994; Carson & Riley, 1995; Carson et al, 1995; Lima et al, 1996; Ansari et al, 1996).

A atividade antiinflamatória, pode dever-se ao β -pineno, cariofileno, α -bisabolol e a compostos sesquiterpêncios, como no óleo de *Bupleurum frutescens*, *Vanillosmopsis arborea* e *Copaifera reticulata* (Martin, 1993; Menezes et al, 1990; Sertié et al, 1995). O α -bisabolol é ainda o responsável pela atividade gastroprotetora do óleo volátil de *Vanillomopsis erytropa*, dentre outros (Antonio et al, 1996; Nogueira et al, 1996; Torrado et al, 1995).

Atividade antisséptica também pode ser atribuída a óleos essenciais, como é o caso de *Melaleuca alternifolia* e *Salvia officinalis*, pela presença de compostos terpênicos (Tong et al, 1992; Daniela, 1993).

Alguns óleos voláteis podem agir sobre o Sistema Nervoso Central, promovendo depressão deste, como pode ser observado com *Croton cajucara* (Himura-Lima et al, 1996), *Lippia geminata* (Vale et al, 1995), *Lippia alba* (Vale et al, 1996), *Egletes viscosa* (Souza et al, 1995) e *Aloelanthus suaveolens* (Coelho-de-Souza, 1996a) devido a elementos como pineno, 1,8-cineol, cariofileno e decanolactona.

A *Melissa officinalis* (Koch-Heutzan & Schultze, 1988) e *Cunila galioides* (Coelho-de-Souza et al, 1996b) fornecem óleos essenciais com propriedade sedativa e esta atividade pode dever-se a compostos como santolol, linalol e acetato de linalina (Okugawa et al, 1995; Buchbauer, 1991).

Os óleos essenciais podem apresentar outras atividade farmacológicas, como atividade analgésica (Göbel et al, 1995; Rao et al, 1990; Lorrenzetti, 1991; Moraes et al, 1995; Souza et al, 1995); herbicida, de *Melissa officinalis* (Vaverkova et al, 1995); hepatoprotetora, do *Santolina canesnens* (Utrilla et al, 1995); antimalárica, pelo *Lippia multiflora* (Valentin et al, 1995); abortiva, do *Ruta graveolens*, devido a metilnonilcetona (Nadkarni, 1976); moluscocida e cercaricida pelos *Eucaliptus*, ricos em 1,8-cineol (Mendez et al, 1990); antihelmíntica, pelo *Artemisia vulgaris* e *Mentha viridis* (Lavabre, 1992); antihemorroidária e antisifilica pelo óleo de *Alpinia speciosa* (Prudent et al, 1993; Mendonça 1989); acaricida, devido ao linalol encontrado no óleo de *Psoroptes cuniculi* (Perruci, 1994); antiespasmódica, pelo *Satureja obovata* e *Croton zehntneri* (Cruz et al, 1990; Magalhães et al, 1995); modulatória linfática, pelo *Copaifera* L. (Almeida et al, 1995); leishmanicida do *Eucaliptus citriodora*, cujo maior constituinte é 1,8-cineol (Teixeira et al, 1996); hipotensora, do *Croton nepetaefolius*, cujo principais componentes são 1,8-cineol e cariofileno (Lahlou et al, 1996; Leal-Cardoso et al, 1996); atividade repelente contra insetos (Rojas & Scorza, 1991).

1.3. Terpenos

Os terpenos são muito comuns na natureza, principalmente em plantas como constituintes de óleos essenciais. Os compostos terpênicos representam a segunda classe, com maior número de constituintes ativos obtidos de plantas, perdendo apenas para os alcalóides (Di Stasi, 1996) e estão divididos em várias subclasses. Estes constituintes possuem uma composição molecular típica ($C_{10}H_{15}$) e são assim denominados devido à sua origem na espécie *Terenbinthus*.

São classificados de acordo com as unidades de carbonos e de esqueletos cíclicos ou não.

Estão subdivididos em monoterpenos (10 unidades de carbono), sesquiterpenos (15 unidades de carbono), diterpenos (20 unidades de carbono), sesterpenos (25 unidades de carbono), triterpenos (30 unidades de carbono) e tetraterpenos (40 unidades de carbono) (Seigler, 1981). Entre as atividades farmacológicas apresentadas por compostos terpênicos e os respectivos compostos associados, incluem sedativa e analgésica (ascaridole e manoalide), antiinflamatória (paeonoflorin e paenonon), inibidora da calmodulina (ofiobolina A), antihelmíntica (ofiobolina M e C), relaxante da musculatura lisa (piperitenona), ativadora da proteína quinase C (mezereína e octahidromezereína), bloqueadora de canais de cálcio (T-canadinol e esteroisômeros), cardioprotetora e antioxidante (gingkolídeos A e B e bilobalide), antialérgica (alisol A e B e paeoniflorin) (Yamahara et al, 1982; Barone et al, 1983; Kubo et al, 1987; Okuyama et al, 1993; Zygmund et al, 1993, Sousa et al, 1997).

Os monoterpenos estão entre os terpenos mais comuns como o citral, cânfora, linalol, terpinen-4-ol, cineol, carvacrol, *p*-cimeno e outros. O carvacrol, além de seu grande emprego como antisséptico, antifúngico e na preparação de sabonetes e essências artificiais, possui ação antimitótica e antiespasmódica. Compostos como a cânfora, além de sua utilização em preparações farmacêuticas para o tratamento de dores musculares e reumatismo, também são úteis como anti-pruriginosos (Di Stasi, 1995). O linalol, na forma de lanolina, é muito empregado pela indústria de cosméticos e perfumes. Os monoterpenos representam uma potencial nova classe de agentes terapêuticos contra o câncer de mama (Russin et al, 1989; Jirtle, 1993). São ainda utilizados em várias preparações farmacêuticas, como agentes mucolíticos e expectorantes (Pozzi, 1989; Gramiccione et al, 1989).

Quanto aos sesquiterpenos verifica-se que com o aumento no número de carbonos ocorre um aumento no número de ciclizações e modificações nas

moléculas, levando a uma grande variedade de compostos. Poucos sesquiterpenos lineares são conhecidos, em comparação com o número de sesquiterpenos cíclicos, dos quais se destacam o himalacol, potente antiespasmódico, e o costunolideo, com atividade antiúlcera, citotóxica e de inibição da síntese de DNA (Di Stasi, 1995). Lactonas sesquiterpênicas, isoladas de *Thapsia garganica*, são substâncias com comprovada ação inibitória da enzima cálcio-magnésio ATPase do retículo sarcoplasmático (Thastrup et al, 1987). Alguns compostos antitumorais, como vernolepina, fenolina e elefantina, também são exemplos de sesquiterpenos (Di Stasi, 1995).

Os diterpenos, possuem origem no pirofosfato de geranylgeranyl e se caracterizam como um grupo de compostos onde as cadeias acíclicas são raras. Entre os diterpenos biologicamente ativos estudados incluem o forskolin, com atividade hipotensora (Bhattacharya et al, 1977), e que foi demonstrado ser um ativador específico e reversível da enzima adenilil ciclase (Seamon et al, 1981), os ésteres de forbol, inicialmente isolados de plantas da espécie *Croton*, que são ativadores da enzima proteína quinase C e que têm sido largamente utilizados para o estudo das funções biológicas, propriedades e distribuição dessa enzima e na investigação da carcinogênese química (Nishizuka, 1984; Berridge, 1987) e o coleonol com atividade hipotensora, espasmolítica inespecífica, cronotrópica positiva e vasodilatadora (Dubey et al, 1974).

Os compostos da subclasse de sesterpenos ocorrem em número muito pequeno na natureza e são pouco conhecidos. São mais comuns em esponjas marinhas e alguns gêneros de fungos, não incluem exemplos de interesse farmacológico.

Por outro lado, os triterpenos caracterizam-se por sua abundância e grande número de constituintes ativos. Neste grupo estão incluídos metabólitos de grande importância biológica, como o colesterol, vitamina D, hormônios sexuais dos mamíferos e inúmeros outros esteróides. Os esteróides, embora possuam esqueleto com 27 a 29 carbonos e não 30 como a regra dos triterpenos, estão incluídos nesta subclasse pois derivam do mesmo precursor, o esqualeno, que

além de sua importância na biossíntese dos triterpenos, é um metabólito com atividade antitumoral e imunestimulante (Di Stasi, 1995). A notável unidade estrutural, entre diferentes membros da superfamília de receptores nucleares para hormônios, contrasta com a grande diversidade de estruturas químicas dos seus ligantes. Das três classes de agentes ligantes conhecidas, esteróides, retinóides e hormônios tireoidianos, as duas primeiras dividem uma via biossintética comum. Ambos são terpenos, os quais são sintetizados por agrupamentos de isopreno (a unidade básica dos terpenos). Um número considerável de receptores nucleares, que ainda não possuem ligantes conhecidos, foram isolados recentemente e uma teoria não confirmada é a de que pelo menos alguns dos ligantes para estes receptores órfãos possam ser encontrados na lista dos terpenos biologicamente ativos (Moore, 1990). Alguns exemplos de triterpenos ativos de origem vegetal são o ginsenosídeo RC e outros gingenosídeos que reúnem ações antiespasmódica, analgésica, antiestressante e de redução do peso corporal. Além do mais, inúmeros triterpenos possuem atividade antiprotozoária, especialmente contra amebíase e malária, dos quais se destacam a bruceantina, glaucarubolone, bruceínas A, B e C, chaparrinona, bruceantanol e a quassina. O ácido oleanólico, desta subclasse, possui atividade antioxidante, hepatoprotetora, antiinflamatória e antihipercolesterolemica (Seigler, 1995; Di Stasi, 1995).

Os tetraterpenos representam uma subclasse de metabólitos que inclui a maioria dos carotenóides, pigmentos essenciais para a fotossíntese. Do ponto de vista farmacológico, são compostos importantes e extremamente úteis quanto ao seu papel biológico, como é o caso da vitamina A (retinol) (Seigler, 1995; Di Stasi, 1995).

1.4. Cineol

O 1,8-cineol, cineol, eucaliptol ou cajeputul é um óxido monoterpênico, com peso molecular de 154,3 ($C_{10}H_{18}O$) (**Figura 1**), incolor, com odor sugestivo de cânfora, principal constituinte de uma variedade de óleos essenciais, dentre eles,

os óleos das espécies de *Eucalyptos*, *Croton*, *Hyptis* (*Hyptis martuisi*), *Pectis* (*Pectis apodacephala*), *Melaleuca* (*Melaleuca alternifolia*) (Craveiro et al, 1981; Tisserand & Balacs, 1995).

Cineol é ainda o principal constituinte dos óleos essenciais de *Psidium pohlianum* (63,3 %) e *Psidium guyanensis* (40,5 %). Estes demonstraram possuir atividade antinociceptiva, antibacteriana, antiinflamatória e anticonvulsivante (Santos et al, 1996, 1997a, b e c).

O cineol é considerado não-tóxico e não-irritante, porém o óleo de eucalipto, cujo maior constituinte é o cineol, provocou alguns incidentes de intoxicações em crianças nos Estados Unidos (Craig, 1953). Existem três principais manifestações da intoxicação: um efeito depressivo, respiração anormal e constrição pupilar. A dose tóxica leva a sonolência em poucos minutos, e o paciente pode ficar inconsciente dentro de 15 minutos. Outros sintomas incluem dor epigástrica, fraqueza nas pernas e dores de cabeça. Os efeitos respiratórios são variáveis, em altas doses estimula a produção de muco no trato respiratório, enquanto a diminui em baixas doses (Tisserand & Balacs, 1995). A morte ocorre após a ingestão de 30 mL do óleo, sendo demonstrados severos efeitos cardiovasculares, respiratórios e no sistema nervoso central (Gurr & Scroggie, 1965), porém um garoto de 3 anos sobreviveu após a ingestão de aproximadamente 10 mL do óleo de eucalipto (Patel & Wiggins, 1980) e um adulto sobreviveu após a ingestão de 60 mL (Gurr & Scroggie, 1965). O cineol também está associado a intoxicações por administração acidental pela via nasal (Tisserand & Balacs, 1995).

Em ratos, o cineol aumenta a atividade das enzimas hepáticas, mas a importância em humanos não é clara (Tisserand & Balacs, 1995). É capaz de aumentar a atividade metabólica de drogas quando administrado por inalação, mas não é claro como este efeito é produzido, pois as concentrações das enzimas hepáticas não estão elevadas, possivelmente deva ocorrer um aumento na atividade de outras enzimas ou co-enzimas associadas com a atividade do citocromo P₄₅₀ (Hohenwallner & Klima, 1971). O cineol quando administrado

subcutâneamente em ratas grávidas na dose de 500 mg/kg, durante 4 dias, é capaz de atravessar a barreira placentária e afetar a atividade das enzimas hepáticas do feto (Jori & Briatico, 1973; De Vincenzi et al, 1996). O óleo de eucalipto (aproximadamente 75% de cineol) não possui atividade embriotóxica ou fetotóxica em roedores (injetado subcutâneamente na dose de 135mg/kg, nos dias 6 a 15 da gestação), não afeta o peso do feto ou tamanho da placenta (Tisserand & Balacs, 1995). O composto não é capaz de induzir encefalopatia em ratos (Kristiansen & Madsen, 1995).

O cineol aumenta a absorção percutânea de preparações farmacêuticas (Levison et al, 1994; Obata et al, 1991; Almirall et al, 1996; Giannakou et al, 1998), possui atividade antipirética e sedativa (Ortiz-de-Urbina et al, 1989), aumenta a atividade locomotora (Kovar et al, 1987), possui papel direto na defesa das plantas contra herbívoros e patógenos, assim como na polinização (Ndiege et al, 1996), é o componente das espécies de *Musa* (Banana) responsável pelo efeito atrativo sobre o *Cosmopolites sordidus*, um causador de pestes nas plantações destas frutas (Ndiege et al, 1996). Cineol é bem absorvido a partir do ar inspirado, com um pico de concentração plasmática após aproximadamente 18 minutos, sendo sua eliminação sanguínea bifásica, com uma meia-vida de distribuição de 6,7 min e uma meia-vida de eliminação de 104,6 min (Jager et al, 1996). Cineol inibe de maneira dose dependente a produção de TNF- α , IL-1 β , LTB₄ e TXB₂ por monócitos humanos estimulados com LPS e IL-1 β *in vitro* (Juergens et al, 1998a). É também capaz de inibir a produção de LTB₄ e PGE₂ por monócitos de indivíduos normais e com asma brônquica *ex vivo* (Juergens et al, 1998b).

É largamente empregado em preparações farmacêuticas de uso interno e externo, serve como estimulante da expectoração nos casos de bronquite e age como anestésico local suave e antiséptico no tratamento de inflamações da boca e garganta. Utilizado também em “sprays” para ambientes e cosméticos (Craveiro et al, 1981).

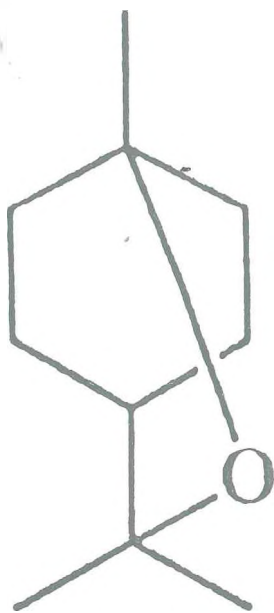


Figura 1- Estrutura química do cineol

1.5. Mastócitos

Os mastócitos são derivados de precursores hematopoiéticos que migram para o tecido conectivo. Os mastócitos adultos estão preferencialmente localizados no epitélio da pele, no sistema respiratório, no trato gastrointestinal e genitourinário, próximo ao sangue e vasos linfáticos (Riley, 1959).

A população de mastócitos apresenta uma heterogeneidade, com consideradas diferenças no conteúdo de mediadores, assim como na susceptibilidade à ativação e liberação de mediadores. Esta heterogeneidade é controlada por diferentes fatores, como citocinas, que afetam a maturação, proliferação e diferenciação destas células (Kitamura, 1989). Os mastócitos apresentam dois fenótipos diferentes, mastócitos da mucosa (MMC) e mastócitos do tecido conjuntivo (CMC). Enerback (1986) demonstrou que em adição a diferenças na morfologia e características histoquímicas, MMC e CMC de camundongos e ratos parecem diferir em alguns aspectos bioquímicos e funcionais. Mastócitos humanos também exibem variações nas características morfológicas, propriedades histoquímicas, quantidade de mediadores estocados, susceptibilidade a estimulação por vários secretagogos e drogas (Schartz, 1993).

Em todas as espécies de mamíferos, os mastócitos expressam receptores na membrana plasmática do tipo FC ϵ RI que se ligam, com especificidade e grande afinidade, à porção Fc do anticorpo IgE, uma imunoglobulina monomérica típica, que consiste de duas cadeias pesadas e duas leves (Conrad et al, 1975; Kinnet, 1989). Esses receptores, que são moléculas glicoproteicas, têm um papel central nas doenças alérgicas por mediar a secreção celular após a exposição ao agente alérgico. Contudo, a ligação do antígeno monomérico IgE aos mastócitos, por si mesma, não leva a ativação celular. Mas, quando ocorre a ligação cruzada por anti-IgE ou por um antígeno específico, IgE induz a degranulação dos mastócitos, através da agregação dos receptores FC ϵ (Segal et al, 1977). Assim, após a sensibilização ativa, ou passiva com IgE de um animal já sensibilizado, a

exposição ao antígeno específico leva os mastócitos a sofrerem uma série de alterações exocitóticas, não citolíticas, bioquímicas e estruturais (Ishizaka, 1988), que resultam na exposição dos grânulos citoplasmáticos ao meio externo ou na desintegração da membrana plasmática dos mesmos, com consequente liberação de seus conteúdos para o meio exterior. Esse processo exocitótico leva a três respostas: (1) exocitose de grânulos secretórios contendo histamina e outros mediadores pré-formados da hipersensibilidade imediata (heparina, proteoglicanas sulfatadas e algumas proteinases); (2) síntese “de novo” e liberação de mediadores eicosanóides, tais como prostaglandinas (PGs) e leucotrienos (LTs) (Okano et al, 1985); (3) síntese e secreção de citocinas (Gordon et al, 1990). A maioria das citocinas secretadas pelos mastócitos representam as proteínas recém-sintetizadas e, dessa forma, aparecem horas após a estimulação. Contudo, o $TNF\alpha$ além de se encontrar entre aquelas proteínas recém sintetizadas, também se encontra pré-formado e estocado nos grânulos secretórios, de modo que essa citocina aparece dentro de minutos (Young et al, 1987; Gordon & Galli, 1990; Galli et al, 1991).

Dessa forma, quando o antígeno sensibilizante entra em contato com os mastócitos, ele se liga a membrana reagindo com o anticorpo. Isso por sua vez, produz um sinal que provoca a degranulação do mastócito e a síntese de várias moléculas bioativas a partir da porção lipídica de sua membrana. A mistura de mediadores estocados nos grânulos (histamina, enzimas, fatores quimiotáticos, etc.) e mediadores recém-sintetizados (metabólitos lipídicos, como PGs, LTs, PAF etc.) atuam em uma variedade de células efectoras, resultando numa constelação de efeitos que caracterizam a reação alérgica (Metcalf et al, 1981).

A degranulação de mastócitos humanos pode ser induzida por uma variedade de secretagogos imunológicos e não-imunológicos, bem como por uma larga variedade de neurotransmissores ou neuromoduladores endógenos (Lagunoff et al, 1983; Rosengard et al, 1986). O mais estudado é a IgE, entretanto, numerosos outros agentes de importância potencial em doenças humanas, também podem causar a degranulação de mastócitos. Opióides, tais

como a morfina, causam degranulação de mastócitos cutâneos, através de um receptor sensível à naloxona (Lagunoff et al, 1983; Casale et al, 1984). A hipóxia, também pode induzir a degranulação (Haas & Bergofsku, 1972) potencialmente recrutando a participação dos mastócitos em situações de hipóxia. Vários sub-produtos do complemento, como C_{5a} , C_{4a} e C_{3a} causam a degranulação mediada por receptor (Cochrane & Muller-Eberhard, 1968; Gorski et al, 1979) e assim podem ser capazes de recrutar a participação dos mastócitos em doenças imunes complexas. Certas drogas, como os antibióticos polimixina B e anfotericina B, os bloqueadores neuro-musculares D-tubocurarina e succinilcolina, e meio de contraste iodado (Metcalf et al, 1981) são também capazes de induzir a degranulação dos mastócitos. Secretagogos de interesse na pesquisa incluem o composto 48/80 (Mota et al, 1953), concavalina A, a qual faz a ligação cruzada da IgE (Margo, 1974), o composto cálcio ionoforo A23187, o qual induz a degranulação dos mastócitos por aumentar o transporte de cálcio para o interior da célula (Foreman et al, 1973). Certos estímulos físicos, como calor, luz, frio, vibração e pressão, também podem causar a degranulação de mastócitos (Casale et al, 1986). Contudo, nesses casos, o mecanismo preciso ainda não foi elucidado. Os fatores liberadores da histamina e neuropeptídeos, derivados de células inflamatórias, são também degranuladores de mastócitos.

Os neuropeptídeos constituem de um grupo de neurotransmissores presentes tanto no SNC, como nos nervos periféricos. Na pele, neuropeptídeos tais como substância P, neurocinina A, somatostatina, neurotensina e o CGRP são encontrados em nervos sensoriais, nas proximidades de superfícies epiteliais, vasos sanguíneos e glândulas (White, 1993).

Os neuropeptídeos promovem aumento da permeabilidade vascular, contração da musculatura lisa e ativação de leucócitos e macrófagos (Sertl et al, 1988). A injeção intradérmica de substância P, CGRP, somatostatina, VIP ou neurotensina na pele humana induz a reação tríplice de Lewis (Fuller et al, 1987), enquanto que a substância P tem sido liberada durante a inflamação aguda na pele de rato (Yonehara et al, 1987).

Assim, em adição à ativação mediada pela interação antígeno-anticorpo, os mastócitos em certos tecidos também podem ser estimulados a liberar histamina pelo NGF (Pearce & Thompson, 1986) e por vários neuropeptídeos, tais como substância P (Fjellner & Hagermark, 1981), neurotensina (Rossie & Miller, 1982), VIP (Fjellner & Hagermark, 1981) e o CGRP (Foreman, 1987). Contudo, a responsividade dos mastócitos aos vários secretagogos é dependente do tecido de origem (Biennestock et al, 1982; Pearce & Thompson, 1986; Lawrence et al, 1987).

A degranulação dos mastócitos neurais e a liberação de seus componentes ativos podem também ocorrer em certas condições patológicas dos nervos periféricos. De fato, a degranulação dos mastócitos tem sido observada no sítio primário da lesão em nervo ciático seccionado de rato (Enerbäck et al, 1965). Em outros tecidos de ratos, também tem sido demonstrado que a degranulação dos mastócitos induzida experimentalmente é seguida por vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, que são características do processo inflamatório agudo (Benditt et al, 1955). Essas reações têm sido atribuídas, em parte, a liberação de aminas biogênicas, primeiro, porque elas podem ser suprimidas por anti-histamínicos e por antagonistas da 5-HT (Spector & Willoughby, 1963; 1964) e segundo, porque reações vasculares semelhantes podem ser produzidas experimentalmente pela injeção de histamina e 5-HT (Majno & Palade, 1961). É assim possível que as aminas biogênicas liberadas dos mastócitos neurais participem do desenvolvimento do edema que ocorre em algumas condições patológicas dos nervos periféricos.

Após a sua ativação e conseqüente liberação e produção de moléculas pró-inflamatórias, os mastócitos são responsáveis por uma série de eventos que resultam nas respostas alérgicas de reação imediata e tardia. As conseqüências da liberação de mediadores usualmente ocorrem dentro de minutos, e levam às respostas alérgicas de reação imediata. Onde os mediadores interagem com os tecidos vizinhos e suscitam uma inflamação alérgica. A reação de hipersensibilidade tardia inicia-se 2-4 h após o estímulo alérgico inicial, com um

efeito máximo entre a 6^a e 24^a h (Lemanske & Kaliner, 1988). A histamina, PGD₂, LTC₄ e PAF, derivados dos mastócitos, produzem os sintomas da resposta inicial ao alérgeno. Essa reação pode ser suplementada pela geração de cininas e proteases pelos mastócitos e por neuropeptídeos liberados após estimulação nervosa (Proud, 1993). Histamina, PAF, triptase e os leucotrienos (LTC₄, LTD₄ e LTE₄) contribuem para aumentar a permeabilidade e a formação de edema, pela promoção de exudação de fluido plasmático e proteínas, para o espaço extracelular. Na pele, a vasodilatação local e o edema são responsáveis pelas alterações na pele que aparecem vários minutos após a exposição ao alérgeno, enquanto que o eritema surge devido a vasodilatação pelo reflexo axônico estimulado primariamente pela histamina (Cavanah & Casale, 1993).

Várias das reações de fase tardia envolvem o recrutamento de leucócitos para a pele e trato respiratório sendo mais importante do que os efeitos diretos da liberação de mediadores pelos mastócitos e outras células no período inicial após a interação com o alérgeno. Histopatologicamente, a reação de fase tardia cutânea é caracterizada pela deposição de fibrina extracelular e infiltração celular com células CD₃⁺, CD₄⁺, eosinófilos, neutrófilos e RNAm para IL-4 e IL-5 (Mekori & Galli 1990, Tsicopoulos et al, 1994).

Estudos demonstram que a infiltração de leucócitos associada com a reação de fase tardia ocorre como um resultado da degranulação de mastócitos, desde que substâncias estabilizadoras de membrana de mastócitos, como o cromoglicato de sódio ou nedocromil sódico, são capazes de inibir a reação de fase tardia (Church et al, 1991).

Os mediadores provenientes de mastócitos contribuem para a expressão de moléculas de adesão. O aparecimento das moléculas de adesão nas células endoteliais é um passo essencial na migração de células imune competentes para o local de ação (Springer, 1990). Os leucócitos inflamatórios incluindo neutrófilos, macrófagos e principalmente eosinófilos que produzem citocinas (IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, PAF, IFN γ e TNF α) exercem efeitos autócrinos e parácrinos nas células adjacentes (Weller, 1992). Esta reação de fase tardia está associada

com o aumento na permeabilidade e infiltração celular no sítio de contato do antígeno que exerce um grande papel na patogênese de doenças alérgicas crônicas (Zweiman, 1993). Composto 48/80, que age primariamente nos mastócitos, induz reação de fase tardia em pele de humanos (Solley et al, 1976).

Dentre as funções biológicas dos mastócitos incluem um papel no envolvimento nos mecanismos de defesa contra infecções parasitárias e bacterianas, imunomodulação do sistema imune, reparo tecidual e angiogênese (Metcalf et al, 1997). Os mastócitos estão envolvidos na patofisiologia de várias condições inflamatórias incluindo, hipersensibilidade alérgica, ulcerações intestinais induzidas por estresse, artrite reumatóide, cistite intersticial, esclerodermia e doença de Crohn. Em muitas dessas condições, o exato papel do mastócitos ainda não é claro, contudo camundongos mutantes que são deficientes de mastócitos, indicam evidências de um específico papel dos mastócitos na resposta a infecções.

1.6. Adenosina

A adenosina, está presente em todos os fluidos corporais e é produzida durante a atividade metabólica normal, pela ação de várias enzimas associadas a membrana, sobre o ATP, ADP e AMP. Os níveis de adenosina são de 0,03-0,3 μ M sobre condições basais. O nível de adenosina extracelular na isquemia pode ser até 100 vezes maior que os níveis basais e acredita-se que esta elevação seja responsável pela citoproteção aos tecidos isquêmicos (Butcher et al, 1987).

A adenosina exerce suas ações fisiológicas, em parte, pela ativação de receptores da adenosina. Os receptores da adenosina foram originalmente classificados por Burnstock (1978) como receptores purinérgicos P_1 e P_2 , dependendo da sua preferência por adenosina ou pelos nucleotídeos de adenina. A afinidade de ligação destes ao receptor P_1 são adenosina \geq AMP \geq ADP \geq ATP, enquanto a afinidade para o receptor P_2 é ATP \geq ADP \geq AMP \geq adenosina (Olsson & Pearson, 1990). Metilxantinas, como teofilina e cafeína, são inibidores não seletivos dos receptores P_1 mas não tem efeito nos sítios P_2 . Receptores

purinérgicos P_1 (receptores da adenosina) são agora classificados em quatro subtipos de receptores da adenosina (A_1 , A_{2A} , A_{2B} e A_3) baseados em critérios estruturais e farmacológicos (Van Galen et al, 1992; Fredholm et al, 1994). Os receptores A_1 e A_{2A} da adenosina, caracterizados farmacologicamente através do uso de ligantes seletivos, na sua maioria têm um papel protetor, isto é, em diminuir a demanda de energia e aumentar o suporte energético, respectivamente, sob condições de estresse. O receptor A_1 liga-se a membros da família de proteína G (G_i) sensíveis a toxina *Pertussis*. Estas proteínas G causam a inibição da adenilil ciclase, a ativação de vários tipos de canais de potássio e a inativação de alguns tipos de canais de cálcio voltagem dependentes (Greene & Haas, 1991) assim como a ativação de fosfolipase C (via subunidades β e γ da proteína G), com subsequente ativação da proteína quinase C e aumento no cálcio intracelular.

Alguns dos agonistas do receptor A_1 são o N_6 -ciclo-pentiladenosina (CPA) e N_6 -ciclohexiladenosina (CHA) agonistas seletivos (Jacobson et al, 1992) e 5'-N-etilcarboxiamidoadenosina (NECA), agonista não seletivo (Bruns et al, 1996). Dentre os antagonistas para esse receptor temos o 1,3-dipropil-8-ciclo-pentilxantina (DPCPX), antagonista seletivo (Bruns et al, 1987) e 8-fenilteofilina (8-PT), antagonista não seletivo (Jacobson et al, 1985).

Os dois subtipos de receptores A_2 clonados, A_{2A} e A_{2B} , são acoplados a proteína G_s para aumentar os níveis de AMPc (Fredholm et al, 1994). A ativação dos receptores da adenosina A_3 leva a inibição da adenilil ciclase e estimulação da fosfolipase C (Linden, 1994). Os níveis basais de adenosina podem agir sobre os receptores A_{2A} , enquanto os receptores A_{2B} são principalmente ativados quando a adenosina atinge níveis acima dos fisiológicos. O papel dos receptores A_{2A} nas condições patofisiológicas ainda é pouco compreendido mas podem estar envolvidos no choque, no controle da dor e em condições inflamatórias (Ongini & Fredholm, 1996).

No sistema nervoso central, a maioria das regiões cerebrais são ricas em receptores A_1 e A_{2B} , o subtipo A_{2A} está localizado especificamente no putamen-caudado, uma região rica em dopamina (Collis & Hourani, 1993). O subtipo A_3

parece estar em menor quantidade no cérebro (Linden, 1994). A adenosina age como um neuromodulador inibindo, via receptores A_1 pré-juncionais, a liberação de vários transmissores, incluindo aminoácidos excitatórios (Fredholm & Dunwiddie, 1988; Fredholm et al, 1993). Em adição, a adenosina reduz a atividade neuronal e o consumo de oxigênio e pode ser considerado como um agente protetor endógeno do cérebro, desde que sua produção está aumentada durante condições isquêmicas (Rudolph et al, 1992; Fredholm et al, 1993). A adenosina também exerce efeitos comportamentais que incluem a diminuição da atividade locomotora e psicomotora (ação sedativa) a qual está mais correlacionada com a estimulação de receptores A_{2A} pós-sinápticos (Fredholm et al, 1993). Além disso, uma propriedade anticonvulsivante da adenosina foi descrita. Na medula espinhal a adenosina está envolvida com o efeito analgésico dos opióides (Daval et al, 1991).

No sistema cardiovascular os receptores A_1 estão localizados no átrio e ventrículo, e os subtipos A_{2A} e A_{2B} estão presentes no músculo liso e endotélio coronário, respectivamente (Tucker & Linden, 1993). Contudo, há somente moderada expressão de receptores A_3 no coração (Linden, 1994). A adenosina exerce efeito cárdio depressivo, isto é, cronotrópico negativo e ação antiarrítmica via receptores A_1 . O suprimento de oxigênio é elevado pela estimulação dos receptores A_2 através de vasodilatação. A adenosina é um potente vasodilatador (A_2 e A_3) e causa queda na pressão sanguínea, sendo também um inibidor endógeno da agregação plaquetária através dos receptores A_{2A} (Collis & Hourani, 1993).

No sistema respiratório, a adenosina exerce efeito broncodilatador através da ativação de receptores A_2 em indivíduos saudáveis, enquanto em indivíduos asmáticos a resposta é de broncoconstrição (Jacobson, 1990). Os receptores A_3 que são principalmente insensíveis à xantinas, estão abundantemente expressados no pulmão e sugere-se que estejam envolvidos na etiologia da asma (Linden, 1994). Com base na função da adenosina como um secretagogo de histamina e leucotrienos de mastócitos envolvendo a estimulação de receptores A_3 , o

desenvolvimento de antagonistas seletivos destes receptores pode ser de benefício terapêutico na asma (Linden, 1994; Jacobson, 1998).

A adenosina também exerce proteção contra injúrias por isquemia/reperfusão (Parrat, 1994) que estão associadas com aumentos significativos das espécies reativas de oxigênio como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila e oxigênio único. O efeito protetor da adenosina, durante a isquemia e reperfusão, deve-se, pelo menos em parte, à ativação de um subtipo de receptor da adenosina (A_3), acoplado a proteína quinase C, cuja ativação resulta na estimulação de mecanismos de defesa antioxidante (Ramkumar et al, 1995).

Recentemente foi proposto que a adenosina é um antiinflamatório endógeno e possui um potencial para modificar respostas inflamatórias pela ação sobre células inflamatórias específicas como os neutrófilos (Cronstein, 1994), assim como de modificar a sinalização da dor pela ação sobre terminais nervosos sensoriais aferentes (Sawynok, 1997). O efeito da adenosina sobre a sinalização da dor é dependente do subtipo de receptor ativado. Em roedores, a ativação de receptores A_1 produz antinocicepção local enquanto a ativação de receptores A_2 produz hiperalgesia (Karlsten et al, 1992; Doak & Sawynok, 1995). Os mastócitos estão localizados na proximidade de terminais nervosos sensoriais e a estimulação destes terminais leva a degranulação dos mastócitos e liberação de mediadores (Dimitriadou et al, 1991). A ativação do receptor A_3 degranula mastócitos e libera histamina e 5-HT (Fozard et al, 1996; Church et al, 1986). A Histamina pode produzir prurido e dor pela ativação de neurônios sensoriais (Simone et al, 1987) e induzir edema (Hill, 1990) pela estimulação dos receptores da histamina H_1 (Saria et al, 1988). 5-HT pode também aumentar a dor pela ação sobre terminais nervosos sensoriais aferentes e induzir edema (Doak & Sawinok, 1997). Então a ativação do receptor A_3 pode influenciar a ativação de neurônios sensoriais e produzir edema por sua ação de degranular mastócitos e liberar histamina e 5-HT.

2. ΟΒΓΕΤΩΝΟΣ

2. OBJETIVOS

Tendo em vista (i) a ausência de um estudo farmacológico mais aprofundado sobre cineol, (ii) do amplo uso de cineol nas preparações farmacêuticas, (iii) do cineol poder apresentar efeitos adversos na aromaterapia, (iv) do uso de óleos essenciais no tratamento de dor local (p. ex., aplicações na testa, peito e joelhos), (v) de efeitos (sedativo, analgésico e anticonvulsivante) previamente encontrados nos óleos essenciais de *Psidium pohlianum* e *Psidium guyanensis*, ricos em cineol, (vi) da recente descoberta de efeitos inibitórios do cineol na produção de citocinas e mediadores inflamatórios de monócitos após estímulo imunológico, o presente trabalho tem por objetivo geral estabelecer os efeitos farmacológicos de cineol com finalidade de buscar novas indicações terapêuticas.

Como objetivos específicos temos:

- Estabelecer a toxicidade aguda do cineol.
- Verificar se o cineol é capaz de induzir edema inflamatório e nocicepção local, em ratos e camundongos, após injeção subplantar. Caracterizar farmacologicamente os mediadores envolvidos nestas respostas.
- Investigar os efeitos sistêmicos tais como atividade sedativa, analgésica, antiinflamatória, antiúlcera e anticonvulsiva, bem como esclarecer os possíveis mecanismos de ação envolvidos nestas atividades.
- Estudar os efeitos do cineol na atividade secretória intestinal induzida pela toxina da cólera e na hepatite tóxica causada por D-Galactosamina/Lipopolissacarídeo em camundongos.
- Estabelecer o efeito do cineol na reprodução em ratos fêmeas.

3. МАТЕРИЯС

3. MATERIAIS

3.1. Animais Experimentais

Camundongos albinos (*Mus musculus*) variedade Swiss-webster, adultos, de ambos os sexos, pesando entre 25-30g, e Ratos albinos (*Rattus norvegicus*) variedade Wistar, adultos, de ambos os sexos, pesando entre 150-180g, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia e do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará, mantidos à temperatura ambiente, com ciclos claro/escuro de 12 em 12 horas, recebendo ração padrão (Purina Chow) e água “ad libitum”.

3.2. Reagentes e Drogas

Produto	Origem
Ácido Acético	Grupo Química
Ácido Acetilsalicílico	CEME
Ácido Clorídrico	Pro Analysis
Ácido Fosfórico	Reagen
Ácido L-glutâmico	Sigma
Ácido Nordihidroguirético	Sigma
Ácido Tiobarbitúrico	Sigma
Aminoguanidina	Sigma
Atropina	Frumtost
Azul de Alcian	Sigma
Azul de Evans	Sigma
Azul de Toluidina	Merck
Bicarbonato de Sódio	Vetec
N-butanol	Reagen
Cafeína	Sigma
Carragenina Tipo IV	Sigma
Cafeína	Sigma
Capsaicina	Sigma
Cetamina (Ketalar®)	Parke-Davis
Cetotifeno (Ketasma®)	Sun Pharmaceutical

Cineol	Sigma
Cimetidina	Sigma
Ciproeptadina (Periatin®)	Prodome
Cloreto de Potássio	Vetec
Cloreto de Magnésio	Cinética
Cloridrato de Naloxona	Sigma
Cloreto de Potássio	Reagen
Cloreto de Sódio	Reagen
Clorpromazina	CEME
Composto 48/80	Sigma
Cromoglicato de Sódio (Cromolerg®)	Allenganfru
Dexametasona (Decadron®)	Prodome
Difenidramina (Benadril®)	Parke-Davis
D-Galactosamina	Sigma
Etanol Absoluto	Quimex
Éter Etilico	Pro Analysis
Fenilbutazona (Butazolídina®)	Geigy
8-Fenilteofilina	Sigma
Formaldeído	Sigma
Glicose	Vetec
Hidrocloreto de Estricnina	Farmus
Indometacina	Sigma
L-arginina	Sigma
L-N ^o -nitro arginina metil ester (L-NAME)	Sigma
Lipopolissacarídeo	Sigma
Metanol absoluto	Reagen
Metisergida (Desirila®)	Sandoz
N-6-Ciclopentiladenosina (CPA)	Sigma
5'-N-Etilcarboxamidoadenosina (NECA)	Sigma
Nifedipina	Sigma
7-Nitroindazol	Sigma
Nitroprussiato de sódio	Merck
Pentobarbital Sódico	Sigma
Picrotoxina	Sigma
Pilocarpina	Sigma
Pentilenotetrazol	Sigma
Sacarose	Pro Analysis
Sulfato de Morfina (Dimorf®)	Cristalina
Talidomida	CEME
Teofilina	Sigma
Toxina da Colera	Sigma
Vermelho de Fenol	ICN Biomedicals Inc.
WEB 2170	Boehringer Ingelhelm

3.3. Soluções Fisiológicas

As soluções foram preparadas com sais de pureza analítica. As concentrações são expressas em milimolar (mM).

- Solução Salina
NaCl 154
- Solução de Ringer-Locke
NaCl 154; KCl 5,6; CaCl₂ 1,6; NaHCO₃ 1,78; Glicose 5,5

3.4. Equipamentos

Produto	Origem
Agitador de Tubos	Fanen
Analisador Bioquímico RA 50	Bayer
Balança Analítica	Marte
Balança de Pesar Animais	Filizola
Banho-Maria	Fanen
Plestismógrafo	Ugo Basile
Material Cirúrgico	-
Microscópio Óptico Binocular	Nikon
Medidor de pH	Alalion
Estufa de Secagem	Fanem
Seringas Plásticas	B-D-Plastipak

4. ΜΕΤΟΔΟΣ

4. MÉTODOS

4.1. TOXICIDADE AGUDA DO CINEOL

Cinquenta camundongos (vinte e cinco machos e vinte e cinco fêmeas) foram distribuídos em cinco grupos de dez animais cada (cinco machos e cinco fêmeas) aos quais foram administrados, por via oral, doses crescentes de cineol (1, 2, 3, 4 e 5 g/Kg). Os animais foram observados quanto às alterações comportamentais, alterações nos padrões fisiológicos de evacuação e micção e quanto ao número de mortes ocorridas no período de setenta e duas horas. A Dose Letal para 50 % dos animais (DL_{50}) foi calculada utilizando-se o método do probito (Miller & Tainter, 1944).

4.2. ATIVIDADE PRÓ-INFLAMATÓRIA DO CINEOL

Cineol é empregado em formulações farmacêuticas para aumentar a penetração percutânea de drogas, pelo seu efeito descongestionante e antitussígeno e como estimulante da pele, na aromaterapia (Mach, 1938; Williams & Barry, 1991; Laude et al, 1994; Levison et al, 1994).

Sintomas tóxicos, não fatais, foram observados após a aplicação nasal de cineol em crianças, que incluíram irritação da mucosa, taquicardia, dispnéia, náusea e vômitos (Melis, 1990). A taxa de difusão de cineol é mais rápida após inalação ou administração oral do que após aplicação na pele (Tisserand, 1985; Kovar et al, 1987). Desde que o extrato córneo funciona como uma barreira protetora para a absorção percutânea, o risco de toxicidade é menor. Contudo, quando a pele é danificada, a taxa de absorção percutânea pode elevar-se e provocar reações locais e sistêmicas. Com base nestes trabalhos avaliamos a capacidade de cineol induzir edema de pata, em ratos, e as características farmacológicas deste edema.

4.2.1. Edema de Pata induzido por Cineol em Ratos

O edema de pata foi induzido em ratos, machos (150-180 g), divididos em grupos de seis animais cada, que receberam uma injeção subplantar de cineol (10, 15 e 20 μL /pata), na pata posterior esquerda. Um volume igual de salina (NaCl 0,9%) foi injetado na pata contralateral. O volume do edema, em mililitros (mL), foi registrado através de um pletismógrafo (Ugo Basile, Itália, Modelo 7150) 30 min, 1, 2, 3, 4, 5 e 24 h após a administração de cineol. Os resultados foram expressos como a diferença de volume (mL) entre a pata injetada com cineol e a pata contralateral que recebeu salina.

O Composto 48/80 (10 μg /pata), um degranulador de mastócitos, foi utilizado como droga padrão de referência.

Um grupo separado de animais foi sacrificado, no tempo de efeito máximo do edema de cineol (2^a hora), sendo retiradas as patas injetadas com salina ou cineol (20 μL). Estas foram fixadas em formalina neutra 10 %, incluídas em parafina, realizadas seções em micrótomo e coradas com hematoxilina eosina e examinadas através de microscopia ótica por um especialista sem conhecimento prévio dos tratamentos.

4.2.2. Caracterização Farmacológica do Edema de Pata induzido por Cineol em Ratos

Para a caracterização farmacológica do edema de pata induzido por cineol, utilizamos a dose de 20 μL /pata, que promoveu maior atividade edematogênica e que mais se aproximou daquela produzida pelo Composto 48/80.

4.2.2.1. Efeito do Composto 48/80 e Capsaicina

Para avaliar o papel dos mastócitos no edema de pata induzido por cineol, ratos, machos (150-180 g), divididos em grupos de seis animais cada, foram

depletados de seus estoques de histamina e 5-HT por repetidas injeções de Composto 48/80, como descrito previamente por Di Rosa et al (1971).

Uma solução de Composto 48/80 0,1 % foi administrada intraperitonealmente, duas vezes ao dia, durante 4 dias. As doses utilizadas foram de 0,6 mg/Kg para as primeiras seis injeções e de 1,2 mg/Kg para as duas últimas injeções. Os animais foram utilizados 5-6 horas após a última injeção de composto 48/80. O grupo controle recebeu veículo (salina, 10 mL/Kg, s.c.)

Para avaliar o papel da Substância P, que pode promover a ativação de mastócitos e a liberação de mediadores inflamatórios, no edema de pata induzido por cineol, ratos, machos (150-180 g), divididos em grupos de seis animais cada, foram depletados de Substância P pela injeção subcutânea de capsaicina, conforme o descrito por Jesell et al (1978).

Os animais receberam uma injeção de capsaicina, uma vez ao dia, na dose de 50 mg/Kg, por dois dias consecutivos. Os ratos foram utilizados sete dias após a última administração de capsaicina.

O edema de pata foi induzido pela administração subplantar de cineol (20 µL/pata) e registrado de acordo com o descrito no item 4.2.1..

4.2.2.2. Efeito de Antagonistas de Mediadores Lipídicos

Para avaliar o papel de prostaglandinas e leucotrienos no edema de pata induzido por cineol, utilizamos os antiinflamatórios não esteroidais, fenilbutazona e indometacina, o antiinflamatório esteroide dexametasona e um inibidor da enzima lipoxigenase, ácido nordihidroguirético. Na investigação do envolvimento do Fator Ativador de Plaquetas (PAF), utilizamos o WEB 2170, um antagonista do PAF.

Ratos, machos (150-180 g), divididos em grupos de seis animais cada, foram tratados oralmente com veículo (salina, 10 mL/Kg), fenilbutazona (200 mg/Kg), indometacina (2 mg/Kg), dexametasona (0,5 mg/Kg) e intraperitonealmente com ácido nordihidroguirético (75 mg/Kg) e WEB 2170 (10

mg/Kg) 45 min antes da administração de cineol, com exceção da dexametasona que foi administrada 2 h antes da indução do edema.

O edema de pata foi induzido pela administração subplantar de cineol (20 μ L/pata) e registrado de acordo com o descrito no item 4.2.1..

4.2.2.3. Efeito de Antihistamínicos, Antiserotoninérgicos e Estabilizadores de Membrana de Mastócitos

Para avaliar o papel da histamina e serotonina no edema de pata induzido por cineol, utilizamos difenidramina (antihistamínico), metisergida (antagonista de receptor 5-HT), ciproeptadina (antagonista de receptor histamínico e de 5-HT), cetotifeno e cromoglicato de sódio (estabilizadores de membrana de mastócitos).

Ratos, machos (150-180 g), divididos em grupos de seis animais cada, foram tratados oralmente com veículo (salina, 10 mL/Kg), difenidramina (5 mg/Kg), metisergida (1 mg/Kg), ciproeptadina (5 mg/Kg), cetotifeno (1 mg/Kg) 45 min antes e intraperitonealmente com cromoglicato de sódio (75 mg/Kg) 30 min antes da administração de cineol.

O edema de pata foi induzido pela administração subplantar de cineol (20 μ L/pata) e registrado de acordo com o descrito no item 4.2.1..

4.2.2.4. Efeito de Antagonista do Fator de Necrose Tumoral (TNF- α)

Na avaliação do envolvimento do TNF- α no edema de pata induzido por cineol utilizamos a talidomida.

Ratos, machos (150-180 g), divididos em grupos de seis animais cada, foram tratados oralmente com veículo (salina, 10mL/Kg) ou talidomida (15 mg/Kg) 45 min antes da administração de cineol.

O edema de pata foi induzido pela administração subplantar de cineol (20 μ L/pata) e registrado de acordo com o descrito no item 4.2.1..

4.2.2.5. Efeito de Antagonista e Agonista da Adenosina

Na tentativa de esclarecer o papel da adenosina do edema de pata induzido por cineol, em ratos, utilizamos 8-fenilteofilina (antagonista de receptores A₁ e A₂) e 5'-N-etilcarboxamidoadenosina (NECA, agonista não seletivo de receptores A₁ e A₂).

Ratos, machos (150-180 g), divididos em grupos de seis animais cada, foram tratados intraperitonealmente com veículo (salina, 10mL/Kg), 8-fenilteofilina (8 mg/Kg) ou NECA (0,1 mg/Kg) 30 min antes da administração de cineol.

O edema de pata foi induzido pela administração subplantar de cineol (20 µL/pata) e registrado de acordo com o descrito no item 4.2.1..

4.2.2.6. Efeito de Cineol Sistêmico

O efeito da administração sistêmica de cineol sobre o edema de pata induzido por cineol, foi avaliado em ratos, machos (150-180 g), divididos em grupos de 6 animais cada que receberam cineol (400 mg/Kg), por via oral, duas vezes ao dia, durante 4 dias consecutivos. O grupo controle recebeu veículo (2 % de Tween 80 em água destilada).

O edema de pata foi induzido pela administração subplantar de cineol (20 µL/pata) e registrado de acordo com o descrito no item 4.2.1..

4.2.3. Degranulação de Mastócitos Peritoneais *in vitro*

Ratos, machos, 150-180g, foram sacrificados por deslocamento cervical, suas cavidades abdominais foram abertas e retirados os mesentérios que foram seccionados em pedaços (~ 1 cm² de área) e colocados em tubos de ensaio

contendo 10 mL de solução Ringer-Locke, como descrito previamente por Norton (1954).

Os mesentérios foram incubados com veículo, cineol (0,56; 1,67 e 5,58 mM) ou Composto 48/80 (0,05; 0,16 e 0,48 μ M), durante 30 minutos, em temperatura ambiente. Após o período de incubação, os mesentérios foram retirados das soluções, colocados sobre lâmina e corados com azul de toluidina 1 %, por 2 min, lavados com água destilada e colocados para secar, a temperatura ambiente. Após o procedimento de secagem, a gordura do tecido foi retirada com o auxílio de uma lâmina. Para cada tecido foram contados, em cinco campos aleatórios, o número de mastócitos degranulados e não degranulados. A contagem foi realizada em microscópio óptico. Para cada concentração das drogas foi determinado o percentual de mastócitos degranulados.

Em um grupo separado, foi determinado a influência de 5'-N-etilcarboxamidoadenosina (NECA, agonista não seletivo A_1 e A_2), na concentração de 3,24 μ M, sobre o efeito de cineol (1,67 mM) na degranulação de mastócitos peritoneais.

4.3. ATIVIDADE PRÓ-NOCICEPTIVA DO CINEOL

Demonstramos que cineol induz uma irritação local e formação de edema após administração subplantar na pata traseira de ratos. A resposta para cineol foi bloqueada por antagonistas da histamina e serotonina e pela depleção pelo Composto 48/80, sugerindo um papel chave para os mastócitos neste efeito edematogênico local. Desde que substâncias como o Composto 48/80 e venenos de abelha (*Apis mellifera*) e vespa (*Vespula vulgaris*) que são capazes de ativarem mastócitos e produzirem edema local, também exercem um efeito algésico local (Haberman, 1972; Banks et al, 1980; Atkinson & Hicks, 1982; Griesbacher et al, 1998) foi de nosso interesse avaliar o potencial pró-nociceptivo local de cineol, assim como as características farmacológicas deste efeito.

4.3.1. Nociceção Local induzida por Cineol em Camundongos

A nociceção local foi induzida em camundongos, machos, 25-30 g, divididos em grupos de oito animais cada, que receberam uma injeção subplantar de cineol (10, 20 e 40 μ l/pata) ou de Composto 48/80 (2,5; 5 e 10 μ g/pata) na pata posterior esquerda, sendo registrado o tempo gasto lambendo a pata, em segundos, durante um período de 20 minutos.

4.3.2. Caracterização Farmacológica da Nociceção Local induzida por Cineol em Camundongos

4.3.2.1. Efeito do Composto 48/80

Para avaliar o papel dos mastócitos na nociceção induzida por cineol, camundongos, machos (25-30 g), divididos em grupos de oito animais cada, foram depletados de seus estoques de histamina e 5-HT por repetidas injeções de Composto 48/80, como descrito previamente por Di Rosa et al (1971).

Uma solução de Composto 48/80 0,1 % foi administrada intraperitonealmente, duas vezes ao dia, durante 4 dias. As doses utilizadas foram de 0,6 mg/Kg para as primeiras seis injeções e de 1,2 mg/Kg para as duas últimas injeções.

A nociceção foi induzida 5-6 h após a última injeção de Composto 48/80 pela administração subplantar de cineol (10, 20 e 40 μ l/pata) ou de Composto 48/80 (2,5; 5 e 10 μ g/pata), na pata posterior esquerda sendo registrado o tempo gasto lambendo a pata, em segundos, durante um período de 20 minutos, começados a contar logo após a administração de cineol ou de Composto 48/80.

4.3.2.2. Efeito da Capsaicina

Para avaliar o papel da Substância P, que pode promover a ativação de mastócitos e a liberação de mediadores inflamatórios, na nocicepção induzida por cineol, camundongos, machos (25-30 g), divididos em grupos de oito animais cada, foram depletados de Substância P pela injeção subcutânea de capsaicina, conforme descrito por Jesell et al (1978).

Os animais receberam uma injeção de capsaicina ao dia, na dose de 50 mg/Kg, por dois dias consecutivos. Os camundongos foram utilizados sete dias após a última administração de capsaicina.

A nocicepção foi induzida pela administração subplantar de cineol (20 µl/pata), na pata posterior esquerda sendo registrado o tempo gasto lambendo a pata, em segundos, durante um período de 20 minutos, começados a contar logo após a administração do cineol.

4.3.2.3. Efeito de Antihistamínicos, Antiserotonérgicos e Estabilizadores de Membrana de Mastócitos

Camundongos, machos, 25-30g, divididos em grupos de oito animais cada, foram tratados oralmente com salina (10 mL/Kg), difenidramina (5 mg/Kg), metisergida (1 mg/Kg), ciproheptadina (5 mg/Kg), cetotifeno (1 mg/Kg) e intraperitonealmente com cromoglicato de sódio (75 mg/Kg) 45 min antes da administração de cineol.

A nocicepção foi induzida pela administração subplantar de cineol (20 µl/pata) e registrada como descrito no item 4.3.2.2..

4.3.2.4. Efeito de Analgésico Opióide, Antagonista da Óxido Nítrico Sintase Neuronal e Antagonista do Receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA)

Camundongos, machos, 25-30g, divididos em grupos de oito animais cada, foram tratados com veículo (salina, 10 mL/Kg, i.p.), morfina (7,5 mg/Kg, s.c), 7-nitroindazol (50 mg/Kg, i.p.) ou cetamina (25 mg/Kg, s.c.) 30 min antes da administração de cineol.

A nocicepção foi induzida pela administração subplantar de cineol (20 µl/pata) e registrada como descrito no item 4.3.2.2..

4.3.2.5. Efeito de Antagonistas e Agonistas da Adenosina

Na tentativa de esclarecer o papel da adenosina na nocicepção induzida por cineol em camundongos utilizamos cafeína (antagonista não seletivo de receptores da adenosina), 8-fenilteofilina (antagonista de receptores A₁ e A₂), N⁶-Ciclopentiladenosina (CPA, agonista seletivo de receptores A₁), 5'-N-etilcarboxamidoadenosina (NECA, agonista não seletivo de receptores A₁ e A₂), nifedipina (inibidor da recaptção da adenosina).

Camundongos, machos, 25-30 g, divididos em grupos de oito animais cada, foram tratados com veículo (salina, 10 mL/Kg, i.p.), cafeína (20 mg/Kg, i.p.), 8-fenilteofilina (8 mg/Kg, i.p.), CPA (0,3 mg/Kg, i.p.) e NECA (0,01 mg/Kg, i.p.) 30 minutos antes e com nifedipina (10 mg/Kg, v.o.) 45 min antes da administração de cineol.

A nocicepção foi induzida pela administração subplantar de cineol (20 µl/pata) e registrada como descrito no item 4.3.2.2..

4.4. ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO CINEOL

4.4.1. Edema de Pata induzido por Carragenina em Ratos

Ratos, fêmeas (150-180 g), divididos em grupos de 6 animais cada, receberam por via oral cineol (100, 200 e 400 mg/Kg), indometacina (5 mg/Kg) ou veículo (2 % de Tween 80 em água destilada, 10 ml/Kg) 45 min antes da indução do edema pela administração subplantar de Carragenina Tipo IV 1 % (0,1 mL/pata) na pata posterior esquerda, seguindo o descrito por Winter et al (1962). Um volume igual de salina (NaCl 0,9 %) foi injetado na pata contralateral.

O edema foi registrado imediatamente antes e 3 h após a administração da carragenina. O volume do edema, em mililitros (mL), foi registrado através de um pletismógrafo (Ugo Basile, Itália, Modelo 7150). A pata posterior do animal foi submergida, até a junção tibio-tarsal, na câmara de leitura do aparelho. O volume de líquido deslocado foi registrado digitalmente e correspondeu ao volume da pata. Os resultados foram expressos como a diferença de volume (mL) entre a pata injetada com cineol e a pata contralateral que recebeu salina.

Para avaliar o papel da adenosina na atividade antiedematogênica de cineol, animais foram tratados com teofilina (10 mg/Kg, i.p.) 15 min antes da administração de cineol (400 mg/Kg, v.o.).

4.4.2. Edema de Pata induzido por Dextrana em Ratos

Ratos, fêmeas (150-180 g), divididos em grupos de 6 animais cada, receberam por via oral cineol (100, 200 e 400 mg/Kg), ciproeptadina (10 mg/Kg) ou veículo (10 mL/Kg) 45 min antes da indução do edema, pela administração subplantar de Dextrana 1,5 % (0,1 mL/pata) na pata traseira esquerda, seguindo o descrito por Winter et al (1962). Um volume igual de salina (NaCl 0,9 %) foi injetado na pata contralateral.

O edema foi registrado imediatamente antes e 2 h após a administração da dextrana. O volume do edema, em mililitros (mL), foi registrado conforme o descrito no item 4.4.1..

4.4.3. Granuloma induzido por “Pellet” de Algodão em Ratos

Ratos, fêmeas (150-180 g) foram divididos em grupos de oito animais cada. Seus dorsos foram depilados no dia anterior ao início do experimento. No dia seguinte os animais foram tratados oralmente com cineol (100, 200 e 400 mg/Kg), indometacina (5 mg/Kg) ou veículo (10 mL/Kg). Após 45 min do tratamento, os animais foram anestesiados com éter e realizada uma incisão centro longitudinal no dorso, onde foram implantados dois “pellets” de algodão estéreis (50 ± 1 mg/cada), um de cada lado da incisão. O tratamento foi continuado por 7 dias, uma vez ao dia, ao final dos quais os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, os “pellets” foram então dissecados juntamente com os granulomas e tomados os pesos úmidos e, posteriormente, os pesos secos, após a secagem em estufa a 60 °C por 2 horas.

4.4.4. Permeabilidade Capilar induzida por Ácido Acético em Camundongos

Camundongos, machos (25-30 g), divididos em grupos de 8 animais cada, foram tratados oralmente com cineol (100, 200 e 400 mg/Kg), ácido acetilsalicílico (250 mg/Kg) ou veículo (10 mL/Kg) 45 min antes da administração endovenosa de Azul de Evans (25 mg/Kg). Imediatamente após a administração do Azul de Evans, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de ácido acético 0,6 % (10 mL/Kg), sendo sacrificados 20 min após a administração do ácido acético por inalação com éter. As cavidades peritoneais foram abertas e lavadas com água destilada, sendo o líquido obtido colocado em frascos com capacidade para 10 mL, previamente preparados com 0,1 mL de solução de NaOH 0,1 N, bem como com lâ de vidro para que a sua

filtração fosse realizada. O volume era então completado para 10 ml, e a coloração contida na solução final foi medida em espectrofotômetro a 590 nm (Whittle, 1964).

4.5. ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO CINEOL

4.5.1. Teste de Contorções Abdominais induzidas por Ácido Acético em Camundongos

Para avaliação da atividade antinociceptiva de cineol, utilizamos o teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6 %, segundo o método de Koster et al (1959). Foram utilizados camundongos, fêmeas (25-30 g), divididos em grupos de 6 animais cada, tratados via oral com cineol (100, 200 e 400 mg/Kg), ácido acetilsalicílico (250 mg/Kg) e veículo (2 % de Tween 80 em água destilada; 10 mL/Kg). Após 45 minutos do tratamento, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de uma solução de ácido acético 0,6 % (0,1 mL/10 g de peso). O número total de contorções foi então determinado por um período de 20 minutos começados a contar 10 minutos após a administração do ácido acético. Sendo a contorção sendo identificada como uma extensão das patas traseiras acompanhada por constrição do abdômen.

4.5.2. Teste da Formalina em Camundongos

A nocicepção química foi induzida segundo o método de Hunskaar & Hole (1987), onde camundongos, fêmeas (25-30 g), divididos em grupos de 8 animais cada, receberam uma injeção subplantar de formalina (1 % em salina 0,9 %; 20 µL/animal) na pata posterior direita e o tempo gasto, em segundos, pelo animal lambendo a pata, foi registrado durante os períodos de 0-5 min (primeira fase) e 20-25 min (segunda fase) após a administração da formalina.

Cineol foi administrado, por via oral, nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg, 45 minutos antes da injeção da formalina, em um volume de 10 mL/Kg. Os animais controle receberam igual volume de veículo (2 % de Tween 80 em água destilada).

O papel do sistema opióide sobre a antinocicepção de cineol foi determinado pela administração de naloxona (1 mg/Kg, s.c.) 20 minutos antes do tratamento com cineol (400 mg/Kg, v.o.) ou morfina (7,5 mg/Kg, i.p.).

Um possível envolvimento da adenosina na nocicepção induzida pela formalina foi determinada pela administração de teofilina (10 mg/Kg, i.p.) 30 minutos antes da administração de formalina, enquanto para avaliar o envolvimento da adenosina na antinocicepção induzida por cineol, teofilina (10 mg/Kg, i.p.) foi administrada 15 minutos antes do tratamento com cineol (400 mg/Kg, v.o.).

4.5.3. Teste da Placa Quente em Camundongos

O método de Eddy & Leimbach (1953) foi seguido, com pequenas modificações, para verificar a eficácia do cineol contra a nocicepção térmica e de ação central. Os camundongos, fêmeas (25-30 g), foram pré-selecionados pela passagem individual na placa quente mantida a $51 \pm 0,5$ °C e aqueles que mostraram tempo de reação (saltar ou lambear as patas traseiras) superior a 20 segundos foram descartados. O tempo de reação foi registrado antes e 30, 60 e 90 minutos após a administração de cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.), morfina (5 mg/Kg, i.p.) ou veículo (10 mL/Kg, v.o.) para grupos separados de 8 animais cada. Um tempo de 45 segundos foi considerado como tempo máximo de reação para prevenir danos nas patas dos animais.

Para avaliar um possível prolongamento do tempo de analgesia da morfina pelo cineol, uma baixa dose de morfina (5 mg/Kg, i.p.) foi administrada 15 min após a administração de cineol (400 mg/Kg, v.o.).

4.5.4. Tempo de Sono induzido por Pentobarbital em Camundongos

Camundongos, fêmeas (25-30 g), foram divididos em grupos de 6 animais cada, e tratados com veículo (2 % de Tween 80 em água destilada, 10 mL/Kg) ou cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.) 45 min antes e com clorpromazina (10 mg/Kg, i.m.) 30 min antes da injeção intraperitoneal de pentobarbital sódio (40 mg/Kg) como agente indutor de sono (Dandiya & Collumbine, 1959). Iniciado o período de sono, os animais foram posicionados em decúbito dorsal, em local de adequada observação. Os animais foram observados durante todo o período de sono, sendo este tempo registrado, em minutos, tendo como parâmetro indicativo de retorno à situação de alerta o momento no qual o animal alterou sua posição de decúbito.

O tempo de sono foi calculado para cada animal da seguinte maneira:

$$\text{Tempo de sono} = T_1 - T_0$$

Onde:

T_0 = o tempo registrado no início do sono

T_1 = o tempo no qual o animal despertou

4.5.5. Atividade Motora Espontânea em Camundongos

A atividade motora espontânea de cineol foi avaliada na tentativa de verificar uma atividade sedativa/depressora no Sistema Nervoso Central.

A atividade motora dos animais foi verificada por meio de um campo aberto, circular, com 40 cm de diâmetro, sendo a sua base (local onde ocorre a movimentação dos animais) dividida em 3 círculos concêntricos e estes, por sua vez, em 25 partes aproximadamente iguais.

Camundongos, fêmeas (25-30 g), foram separados em grupos de 6 animais cada e tratados via oral com cineol (400 mg/Kg) ou veículo (10 ml/Kg). Após 45 min os animais foram levados individualmente ao campo aberto durante um período de 4 minutos, baseado no modelo descrito por Capaz et al (1981), sendo registrada a frequência de locomoção, que é o ato de locomover-se, isto é, o ato do animal com o tronco afastado do chão, por meio de movimentos coordenados das quatro patas, levanta-se e volta a apoiá-las em outro local, deslocando-se horizontalmente sobre o fundo da arena do campo aberto. A unidade de medida correspondeu ao número de divisões da fundo da arena do campo aberto nas quais o animal penetrou com suas quatro patas. A frequência de locomoção foi registrada 60 minutos após a administração oral de cineol ou veículo.

4.5.6. Temperatura Corporal em Ratos

Ratos, machos (150-180 g), em jejum de sólidos de 18 horas, foram divididos em grupos de 8 animais cada e tratados, via oral, com cineol 100, 200 e 400 mg/Kg ou veículo.

A temperatura retal (°C) dos animais foi registrada 1 h antes do tratamento e em intervalos de 1 h até completarem 3 h, com um termômetro digital inserido no reto (3cm).

4.6. ATIVIDADE ANTICONVULSIVANTE DO CINEOL

4.6.1. Convulsões induzidas por Pentilenotetrazol em Camundongos

A atividade anticonvulsivante de cineol foi avaliada frente às convulsões induzidas por pentilenotetrazol, segundo o modelo de Rudzik et al (1973). Camundongos, fêmeas (25-30 g), divididos em grupos de 6 animais cada, foram tratados oralmente com veículo (2 % de Tween 80 em água destilada, 10 mL/Kg)

ou cineol (100, 200 e 400 mg/Kg). Após 45 minutos do tratamento, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de pentilenotetrazol (80 mg/Kg), sendo registrado a latência (em segundos) para a primeira convulsão generalizada, o número de animais que apresentaram convulsão e o percentual de morte.

Para avaliar uma possível participação da adenosina endógena no efeito anticonvulsivante de cineol, animais foram pré-tratados com cafeína (50 mg/Kg, i.p.) 15 min antes da administração de cineol (400 mg/Kg, v.o.).

Para avaliar uma possível participação do receptor do glutamato e do óxido nítrico no efeito anticonvulsivante de cineol, animais foram pré-tratados com ácido L-glutâmico (1000 mg/Kg, i.p.) e 7-nitroindazol (50 mg/Kg, i.p.), respectivamente, 15 min antes da administração de cineol (400 mg/Kg, v.o.).

4.6.2. Convulsões induzidas por Estricnina em Camundongos

De acordo com o modelo descrito por Soaje-Echaque & Lim (1962), cineol foi administrado, oralmente, em camundongos, fêmeas (25-30 g, n= 6), na dose de 400 mg/Kg, 45 min antes da injeção intraperitoneal de estriçnina (2 mg/Kg) em volume de 10 mL/Kg. Os animais controle receberam igual volume de veículo. Os animais foram observados quanto a latência, em segundos, para a primeira convulsão generalizada e percentual de morte.

4.6.3. Convulsões induzidas por Pilocarpina em Camundongos

Neste modelo experimental, descrito por Turski et al (1984) , foram utilizados camundongos, fêmeas (25-30 g), divididos em grupos de 6 animais cada e tratados oralmente com cineol (400 mg/Kg) ou veículo (10 mL/Kg, v.o.). Após 45 min, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de pilocarpina (400 mg/Kg) e foram observados com relação a latência, em segundos, para a primeira convulsão generalizada e percentual de morte.

4.6.4. Convulsões induzidas por Picrotoxina em Camundongos

Neste modelo experimental, descrito por Veliskova et al (1990) , foram utilizados camundongos, fêmeas (25-30 g), divididos em grupos de 6 animais cada e tratados oralmente com cineol (400 mg/Kg) ou veículo (10 mL/Kg, v.o.). Após 45 min, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de picrotoxina (6 mg/Kg) e foram observados com relação a latência, em segundos, para a primeira convulsão generalizada e percentual de morte.

4.6.5. Teste de Imobilização da Cauda em Camundongos

Camundongos, fêmeas (25-30 g), divididos em grupos de 6 animais cada, foram tratados oralmente com veículo ou cineol (100, 200 e 400 mg/Kg). Após 45 minutos do tratamento, os animais foram fixados, pela cauda, a uma haste metálica posicionada horizontalmente e localizada a 30 cm do chão, sendo registrado o tempo, em segundos, de imobilização do animal durante 5 minutos de observação.

4.6.6. Teste do “Rotarod” em Camundongos

Camundongos, fêmeas (25-30 g), foram pré-selecionados pela colocação em um aparelho de “rotarod” de 36 mm de diâmetro, realizando 4 rotações por minuto (rpm). Os animais que permaneceram no aparelho dentro de 120 segundos foram selecionados e divididos em grupos de 6 animais cada, e tratados oralmente com veículo (2 % de Tween 80 em água destilada, 10 mL/Kg) ou cineol (100, 200 e 400 mg/Kg). Após 45 min da administração das drogas, os animais foram recolocados no aparelho de “rotarod” e registrado o tempo, em segundos, que o animal permaneceu no aparelho (Dunham & Miya, 1957).

4.7. ATIVIDADE ANTIÚLCERA DO CINEOL

Para avaliação da atividade antiúlcera foram utilizados dois modelos experimentais, nos quais as lesões foram induzidas por etanol absoluto (Robert et al, 1979) e pelo antiinflamatório não esteroide indometacina (Djahanguiri, 1969), simultaneamente um parâmetro complementar à avaliação do processo ulcerativo foi determinado, a concentração de muco da mucosa gástrica (Corne et al, 1974).

4.7.1. Lesão Gástrica induzida por Etanol em Ratos

Ratos, fêmeas (150-180 g), mantidos em jejum de sólidos por 18 horas antes do experimento foram tratados, via oral, com veículo (2 % de Tween 80 em água destilada, 10 mL/Kg), cimetidina (100 mg/Kg) ou cineol (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg). Quarenta e cinco minutos após os tratamentos, os animais receberam, pela mesma via, etanol absoluto (1 mL/animal) e 30 min depois foram sacrificados por deslocamento cervical. Os estômagos foram abertos pela grande curvatura, lavados com salina e comprimidos entre dois vidros de relógio para melhor visualização. A área lesada foi medida por planimetria e expressa em termos de percentagem da área total do corpo gástrico.

Para avaliar o papel da adenosina na lesão gástrica induzida por etanol, animais foram pré-tratados com 8-fenilteofilina (8-PT, 8 mg/Kg, i.p.), N⁶-ciclopentiladenosina (CPA, 1 mg/Kg, i.p.) ou 5'-N-etilcarboxamidoadenosina (NECA, 0,1 mg/Kg, i.p.) 30 min antes da administração oral de etanol absoluto (1 mL/animal). Para avaliar o papel da adenosina no efeito antiulcerogênico de cineol, 8-fenilteofilina (8 mg/Kg, i.p.) foi administrada 15 min antes do tratamento com cineol (400 mg/Kg, v.o.).

Para avaliar o papel do óxido nítrico na lesão gástrica induzida por etanol, animais foram pré-tratados com L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) 30 min antes da administração de etanol absoluto (1 mL/animal), enquanto para avaliar o papel do

óxido nítrico no efeito antiulcerogênico de cineol, L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) foi administrado 15 min antes do tratamento com cineol (400 mg/Kg, v.o.).

4.7.2. Lesão Gástrica induzida por Indometacina em Ratos

Ratos, fêmeas (150-180 g), mantidos em jejum de sólidos por 36 horas antes do experimento, foram tratados, via oral, com veículo, cimetidina (100 mg/Kg) ou cineol (100, 200 e 400 mg/Kg). Quarenta e cinco minutos após os tratamentos, os animais receberam, pela mesma via, indometacina (30 mg/Kg) e 8 horas após foram sacrificados por deslocamento cervical (Djahanguiri, 1969). Os estômagos foram retirados, instilados com formalina a 5 % por 15 min, abertos pela grande curvatura, lavados com salina e inspecionados para atribuições de escores de acordo com Szabo et al, 1985.

4.7.3. Determinação do Muco da Mucosa Gástrica em Ratos

O método de determinação do muco da mucosa gástrica consiste em determinar mucopolissacarídeos solúveis, utilizando-se Azul de Alcian, um corante específico para mucinas ácidas (Corne et al, 1974).

Ratos, fêmeas (150-180 g), mantidos em jejum de sólidos por 18 horas antes do experimento foram tratados, via oral, com veículo (2 % de Tween 80 em água destilada) ou cineol (50 mg/Kg). Quarenta e cinco minutos após os tratamentos, os animais receberam, pela mesma via, etanol absoluto (1 mL/animal) e 30 min depois foram sacrificados por deslocamento cervical. Os estômagos foram abertos pela grande curvatura, lavados com salina .

A região fúndica do estômago foi desprezada e cerca de metade de cada porção glandular foi pesada e transferida para um tubo de ensaio e mantida por 2 h em solução de Azul de Alcian a 1 % em sacarose 0,16 M (preparada em acetato de sódio a pH posteriormente ajustado para 5,8 com HCl 0,1 M). Após duas lavagens consecutivas com 5 mL de sacarose 0,25 M (a primeira por 15 min

e a segunda por 45 min), adicionou-se 5 mL de $MgCl_2$ a 0,5 M, em cada tubo, para extração do muco complexado com o corante. As peças permaneceram em contato com a solução por 2 h, com agitação intermitente, por 20 seg, a cada 30 min. Após este tempo, as peças foram desprezadas e a solução aquosa resultante foi agitada com 5 mL de éter etílico e centrifugada a 3000 rpm por 10 min. A absorvância da fase aquosa foi medida em espectrofotômetro a 598 nm. A concentração de Azul de Alcian foi calculada através da equação da reta de regressão, obtida de uma curva de calibração com concentrações crescentes do corante e expressa em μg de Azul de Alcian/g de tecido glandular.

4.7.4. Avaliação da Atividade Antisecretória Ácida Gástrica em Ratos

O estômago *in situ* com ligadura pilórica é um modelo que permite estudar o efeito de drogas na secreção gástrica e nos eventos envolvidos na gastroproteção, como a secreção de ácido, pepsinogênio, prostaglandinas e liberação de enzimas plasmáticas, utilizadas atualmente como índice de lesão celular. Neste método, o conteúdo gástrico acumulado, durante 4 horas, é avaliado em termos de volume secretado e acidez total. Os valores da acidez total, expressos em $\mu Eq[H^+]/h$, não correspondem sempre ao pH, pois as proteínas presentes na secreção podem tamponar parte da acidez (Visscher et al, 1954).

Ratos, fêmeas (150-180 g), em jejum de sólidos de 18 horas, foram anestesiados com éter, fixados em decúbito dorsal e realizada a tricotomia da parede abdominal. Através de uma incisão de 2 cm na região epigástrica, o estômago foi localizado e o piloro amarrado. Administrou-se o tratamento com cineol (200 e 400 mg/Kg), cimetidina (100 mg/Kg) ou veículo, por via intraduodenal, sendo posteriormente suturada a parede do abdômen e a pele. Transcorridas quatro horas da cirurgia, os animais foram sacrificados, a cárdia foi amarrada, para evitar perda do material secretado, e removido o estômago. Os estômagos foram lavados externamente com água destilada, secados em papel de

filtro e mantidos em béquer sobre placa de gelo. Os estômagos foram seccionados ao longo da grande curvatura e o suco gástrico foi recolhido em tubos de ensaio imersos em gelo. Os tubos foram centrifugados a 1500 rpm por 30 min.

O sobrenadante do suco gástrico foi transferido para uma proveta e o volume mensurado. A acidez total foi determinada através de titulação com NaOH 0,1 N, utilizando fenolftaleína 2 % como indicador ácido-base.

4.7.5. Esvaziamento Gástrico em Ratos

Ratos, fêmeas (150-180 g), mantidos em jejum de sólidos durante 18 horas, receberam, por via oral, veículo, atropina (2 mg/Kg) e cineol (400 mg/Kg). Após 45 min foi administrado o vermelho de fenol (0,5 mg/Kg, v.o.) e 15 min depois os animais foram sacrificados. O piloro e a cárdia foram amarrados e removido o estômago. Os estômagos foram lavados externamente, abertos ao longo da grande curvatura e coletado o conteúdo gástrico em um bécker. A superfície interna do estômago foi lavada utilizando 7 mL de água destilada. O volume obtido foi centrifugado a 1500 rpm por 15 min. Foi adicionado 1 mL de NaOH 1 M a 1 mL de sobrenadante e lido a absorbância em espectrofotômetro a 560 nm. Os resultados foram interpolados em uma curva padrão de vermelho de fenol para calcular a concentração do corante retido no estômago (Gupta & Brans, 1978).

4.8. ATIVIDADE ANTISECRETÓRIA DO CINEOL

4.8.1. Secreção Intestinal induzida por Toxina da Cólera

O efeito do cineol sobre a secreção de fluido intestinal induzida pela toxina da cólera foi avaliado segundo o método descrito por Triadafilopoulos et al (1987), com pequenas modificações.

Ratos, machos (150-180 g), foram anestesiados pela injeção intraperitoneal de pentobarbital sódico (40 mg/Kg) e realizada uma laparotomia onde aproximadamente 5 cm de alça intestinal (íleo distal) foi ocluída com o auxílio de um fio de algodão, sem influenciar a circulação. No interior de cada segmento de alça intestinal ocluído foi injetado 0,2 mL de uma solução contendo 10 µg de toxina da cólera em 50 mmol/L de Tris (pH 7,4) (controle toxina) ou 0,2 mL de 50 mmol/L de Tris (pH 7,4) (controle normal), estes animais foram tratados com veículo (2 % de Tween 80 em água destilada, 10 mL/Kg, v.o.) 45 min antes do procedimento cirúrgico. A incisão abdominal foi então suturada e os animais mantidos a temperatura ambiente. A anestesia foi mantida pela administração subcutânea de pentobarbital sódico (20 mg/Kg) a intervalos de 30 min.

Outros dois grupos foram tratados com cineol (400 mg/Kg, v.o.) ou 8-fenilteofilina (8 mg/Kg, i.p.) 15 min antes da administração de cineol (400 mg/Kg, v.o.). Após 45 min da administração de cineol, foi realizada uma laparotomia onde aproximadamente 5 cm de alça intestinal (íleo distal) foi ocluída com o auxílio de um fio de algodão. No interior de cada segmento de alça intestinal ocluído foi injetado 0,2 mL de uma solução contendo 10 µg de toxina da cólera em 50 mmol/L de Tris (pH 7,4). A incisão abdominal foi então suturada e os animais mantidos a temperatura ambiente. A anestesia foi mantida pela administração subcutânea de pentobarbital sódico (20 mg/Kg) a intervalos de 30 min.

Após 4 horas da cirurgia, os ratos foram sacrificados por excesso de éter, e as alças intestinais foram gentilmente dissecadas e tomado o peso (miligramas) e o comprimento (centímetros). A secreção intestinal foi tomada como a relação entre o peso e o comprimento da alça intestinal (mg/cm).

4.9. EFEITO DO CINEOL NA TOXICIDADE INDUZIDA POR D-GALACTOSAMINA/LIPOPOLISSACARÍDEO EM CAMUNDONGOS

Na avaliação da atividade de cineol sobre a toxicidade induzida por Galactosamina (GalN)/Lipopolissacarídeo (LPS), em camundongos, realizamos três séries de experimentos.

Na primeira série de experimentos, camundongos, machos (25-30 g), em jejum de sólidos de 18 horas, divididos em grupos de 10 animais cada, foram tratados com cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.), dexametasona (1 mg/Kg, s.c.) ou veículo (2 % de Tween 80 em água destilada, 10 mL/Kg, v.o.) 1 h antes, com exceção da dexametasona que foi administrada 2 h antes, da administração intraperitoneal de uma solução de D-galactosamina (GalN, 700 mg/Kg) e Lipopolissacarídeo (LPS, 5 µg/Kg) que foram dissolvidos em solução salina normal e administrados conjuntamente (GalN/LPS) em um volume de 0,5 mL/animal.

Após 24 horas do tratamento com GalN/LPS foi registrado o número de animais mortos em cada grupo e determinado o percentual de proteção contra a morte.

Na segunda série de experimentos, camundongos, machos (25-30 g), em jejum de sólidos de 18 horas, divididos em grupos de 10 animais cada, foram tratados com veículo (2 % de Tween 80 em água destilada, 10 mL/Kg, v.o.) e cineol (400 mg/Kg, v.o.) 1 h antes da administração de GalN/LPS. Para avaliar o papel do óxido nítrico na toxicidade de GalN/LPS animais foram tratados com inibidores da óxido nítrico sintase constitutiva (L-NAME, 20 mg/Kg, i.p.) e induzida (aminoguanidina, 100 mg/Kg, s.c.) 30 min antes da administração de GalN/LPS. Para avaliar o papel do óxido nítrico no efeito protetor de cineol, animais foram tratados com L-arginina (600 mg/Kg, s.c.), substrato da síntese de óxido nítrico, e nitroprussiato de sódio (0,5 mg/Kg, s.c.), doador de óxido nítrico,

15 min antes da administração de cineol (400 mg/Kg, v.o.) e após 1 h da administração de cineol os animais foram tratados com GalN/LPS.

Após 24 horas do tratamento com GalN/LPS foi registrado o número de animais mortos em cada grupo e determinado o percentual de proteção contra a morte.

Na terceira série de experimentos, para avaliar os níveis de transaminases séricas, dosagem de malonaldeído e exame histológico hepático, camundongos, machos (25-30 g), em jejum de sólidos de 18 horas, divididos em grupos de 10 animais cada, foram tratados com veículo (10 mL/Kg, v.o.), dexametasona (1 mg/Kg, s.c.) ou cineol (400 mg/Kg, v.o.) 1 h antes, com exceção da dexametasona que foi administrada 2 h antes, da administração intraperitoneal de GalN/LPS.

Após 2 horas da administração de GalN/LPS, os animais foram anestesiados com éter e coletado o sangue, livre de anticoagulante, através do plexo sino-orbital. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm para separação do soro, o qual foi utilizado para a determinação das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) através de um analisador bioquímico semi-automático (Bayer, modelo RA-XT), utilizando-se "Kits" bioquímicos para cada enzima.

Após 4 horas do tratamento com GalN/LPS, os animais foram sacrificados, seus fígados retirados, pesados e tomou-se 200 mg para determinação do malonaldeído, sendo o restante do órgão fixado em formalina neutra 10 %, incluído em parafina, realizadas seções em micrótomo e corado com hematoxilina-eosina. As alterações histopatológicas foram examinadas em microscópio ótico, por um especialista, sem conhecimento prévio do tratamento dos grupos.

Para dosagem do malonaldeído, duzentos miligramas de fígado foram tomados e homogeneizados em 2 mL de cloreto de potássio 0,15 M (homogenato a 10%). Duzentos e cinquenta microlitros do homogeneizado foi colocado em tubo de ensaio, adicionados 2 mL de uma mistura de clorofórmio e metanol (2:1)

e agitado por um minuto, a este foram adicionados 1,25 mL de água destilada e centrifugado a 2000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi desprezado e 250 μ L do centrifugado foi colocado em tubo de ensaio, adicionados 1,5 mL de ácido fosfórico 1 % e 500 μ L de solução de ácido tiobarbitúrico 0,6 %. Esta mistura foi fervida em banho-maria, durante 45 minutos, a seguir resfriada em água corrente, adicionados 2 mL de n-butanol, agitada por 1 minuto e centrifugada a 1200 rpm por 15 minutos. A fase butanólica (sobrenadante) foi tomada para leitura em espectrofotômetro a 520 e 535 nm. A diferença das absorbâncias obtidas foi utilizada para calcular o malonaldeído, baseada no coeficiente de extinção molar de 13,700 M/cm, e os resultados expressos como μ moles de malonaldeído por grama de tecido (Uchiyama & Mihara, 1978).

4.10. EFEITO DO CINEOL NA REPRODUÇÃO

Os ensaios realizados com a finalidade de detectar uma interferência de cineol com a fertilidade de animais experimentais, seguiram a metodologia descrita por Khanna & Chaudhury (1970) e foram eles: efeito sobre o ciclo estral e efeito na gravidez em ratos.

4.10.1. Efeito sobre o Ciclo Estral

Ratos, fêmeas (150-180 g), divididos em três grupos de 6 animais cada e escolhidos com base na existência de 2 ciclos estrais consecutivos normais, foram tratados oralmente, diariamente, com veículo (2 % de Tween 80 em água destilada, 10 mL/Kg) ou cineol (200 e 400 mg/Kg) durante um período de 10 dias, examinando-se simultaneamente a fase do ciclo estral na qual os animais se encontravam, através da colheita da secreção vaginal e observação da citologia à microscopia óptica. Após o período de tratamento, as fêmeas continuaram a ser

examinadas por mais 10 dias, com o intuito de observar a persistência ou não do efeito do cineol.

4.10.2. Efeito na Gravidez

Após o acasalamento de ratos machos, comprovadamente férteis, com fêmeas de ciclo regular, na fase pró-estro do ciclo estral, a existência de gravidez era detectada através da presença de espermatozóides no esfregaço vaginal (esperma positivo) e considerado o 1º dia da gravidez. Os animais, com gravidez comprovada, foram separados, ao acaso, nos grupos experimentais e controle. O grupo experimental foi tratado com cineol (200 e 400 mg/Kg, v.o.) e o grupo controle com veículo (2 % de Tween 80 em água destilada; 10 mL/Kg, v.o.), sendo estes divididos em dois grupos de tratamento, do 1º ao 7º dia e do 8º ao 15º dia da gestação. Para cada grupo foi determinado o índice de gravidez, que correspondeu à proporção de gravidez entre fêmeas com esperma positivo. Os animais foram sacrificados no 20º dia da gravidez sendo quantificado o número de fetos vivos e mortos e seus pesos, assim como a presença de sinais macroscópicos de teratogenicidade.

4.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como a média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Para comparação múltipla dos dados paramétricos foi utilizada a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Student Newman Keul e para os dados não paramétricos foi empregado o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunnett.

Para comparação de valores de letalidade (ensaio de atividade anticonvulsivante) foi utilizado o teste do Qui-quadrado. A significância mínima foi aceita ao nível de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. TOXICIDADE AGUDA DO CINEOL

A Dose Letal para 50 % dos animais (DL_{50}) de cineol, administrado por via oral, é de $3,85 \pm 0,33$ g/Kg.

Cineol nas doses de 1, 2 e 3 g/Kg, v.o., produziu leve sedação e nas doses de 4 e 5 g/Kg, v.o., observou-se alta sedação, depressão respiratória, analgesia e coma.

5.2. ATIVIDADE PRÓ-INFLAMATÓRIA DO CINEOL

5.2.1. Edema de Pata induzido por Cineol em Ratos

A **Figura 2** demonstra que a injeção subplantar de cineol nas doses de 10, 15 e 20 μ L/pata produz um edema dose dependente.

A dose de 10 μ L/pata de cineol produz um edema cujo pico se dá 30 min após a administração do mesmo, sendo praticamente inexistente na 24^a hora. Enquanto nas doses de 15 e 20 μ L/pata o pico do edema se dá na 2^a hora e este edema permanece até a 24^a hora.

O edema de pata induzido pelo Composto 48/80 (10 μ g/pata) desenvolve-se rapidamente, com um pico na 1^a hora, diminuindo gradualmente entre a 2^a e 5^a hora, tornando-se praticamente ausente na 24^a hora.

A análise histológica das patas controle (salina) demonstrou epiderme sem alterações, discreto edema na derme e presença de mastócitos com discreta degranulação (**Figura 3a**). As patas tratadas com cineol (20 μ L) demonstraram epiderme com áreas de atrofia, edema moderado na derme e intenso exudato

inflamatório, predominantemente composto por polimorfonucleares. Presença frequente de mastócitos, principalmente no conjuntivo do perimísio, com moderado a acentuado grau de degranulação (**Figura 3b**).

O edema de pata produzido por cineol (20 μL /pata) não foi estatisticamente diferente daquele produzido pelo Composto 48/80 (10 μg /pata) até a 5^a hora. Contudo, o edema induzido por cineol (15 e 20 μL /pata) na 24^a hora foi estatisticamente maior ($p < 0,01$) que o produzido pelo Composto 48/80.

5.2.2. Caracterização Farmacológica do Edema de Pata induzido por Cineol em Ratos

5.2.2.1. Efeito do Composto 48/80 e Capsaicina

A **Figura 4** mostra que o tratamento sistêmico dos animais com Composto 48/80 foi capaz de inibir de forma significativa ($p < 0,001$), em todos os períodos de observação, o edema de pata induzido por cineol (20 μL /pata).

O pré-tratamento dos animais com capsaicina (2 x 50 mg/Kg, s.c.) não alterou, em nenhum período de observação, o edema de pata induzido pela administração subplantar de cineol (20 μL /pata) (**Figura 4**)

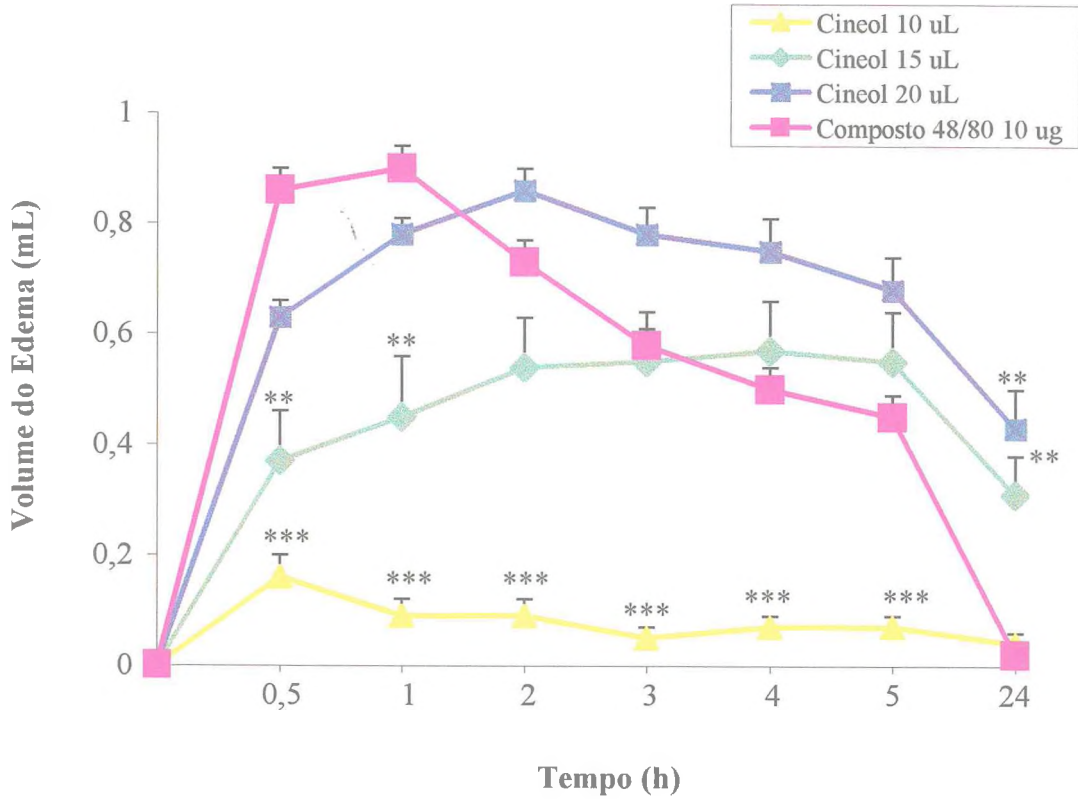


FIGURA 2 - Edema de pata induzido por cineol e composto 48/80. Cineol (10, 15 e 20 $\mu\text{L}/\text{pata}$) e composto 48/80 (10 $\mu\text{g}/\text{pata}$) foram administrados por via subplantar, na pata posterior esquerda de ratos. Um volume igual de salina foi injetado na pata contralateral. Cada ponto representa a média \pm E.P.M. para 6 animais. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado ao Composto 48/80 (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

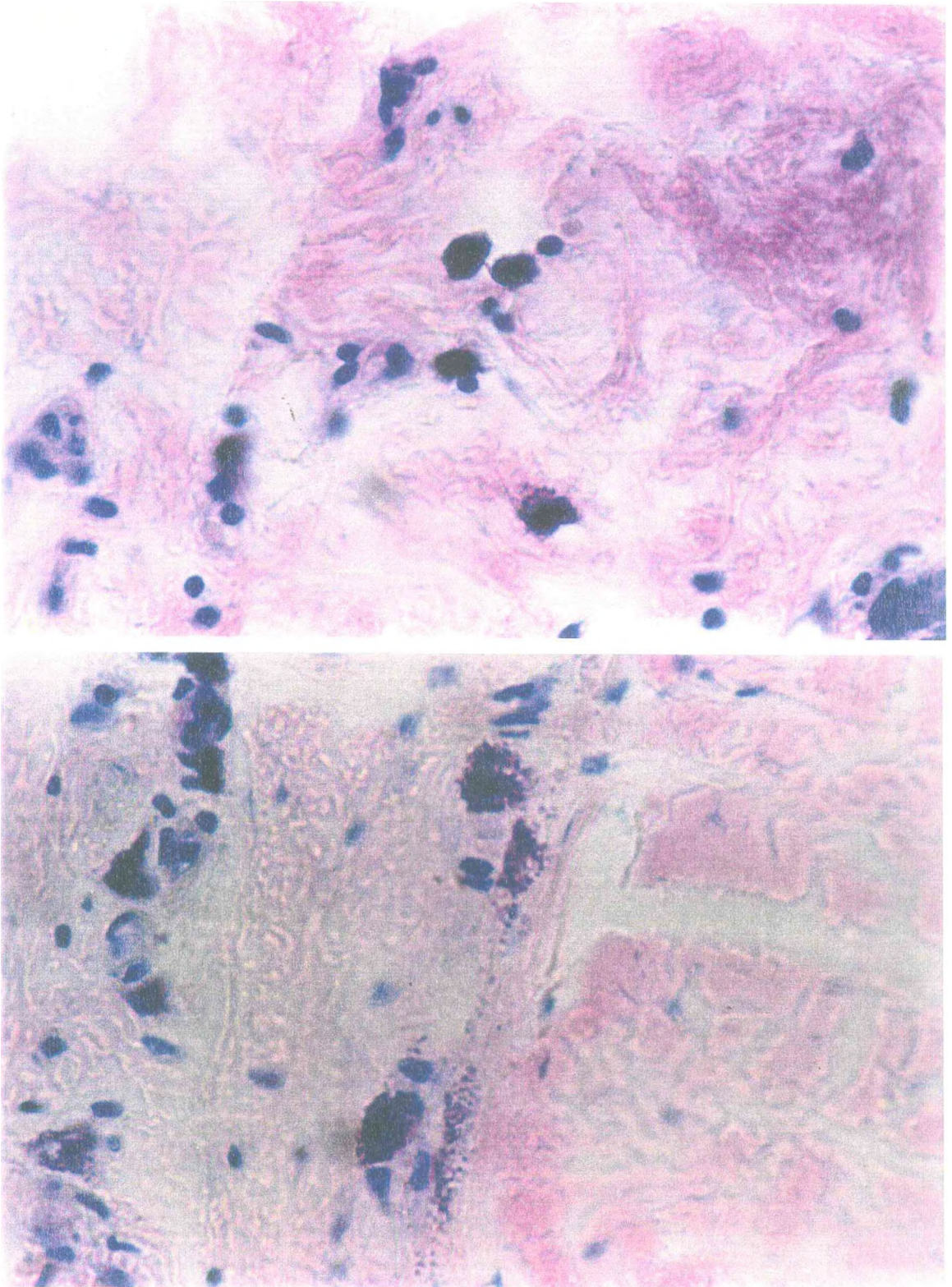


FIGURA 3 – Microfotografias de patas de ratos. Pata tratada com salina 20 μ L (A) e cineol 20 μ L (B) (HE, 400x).

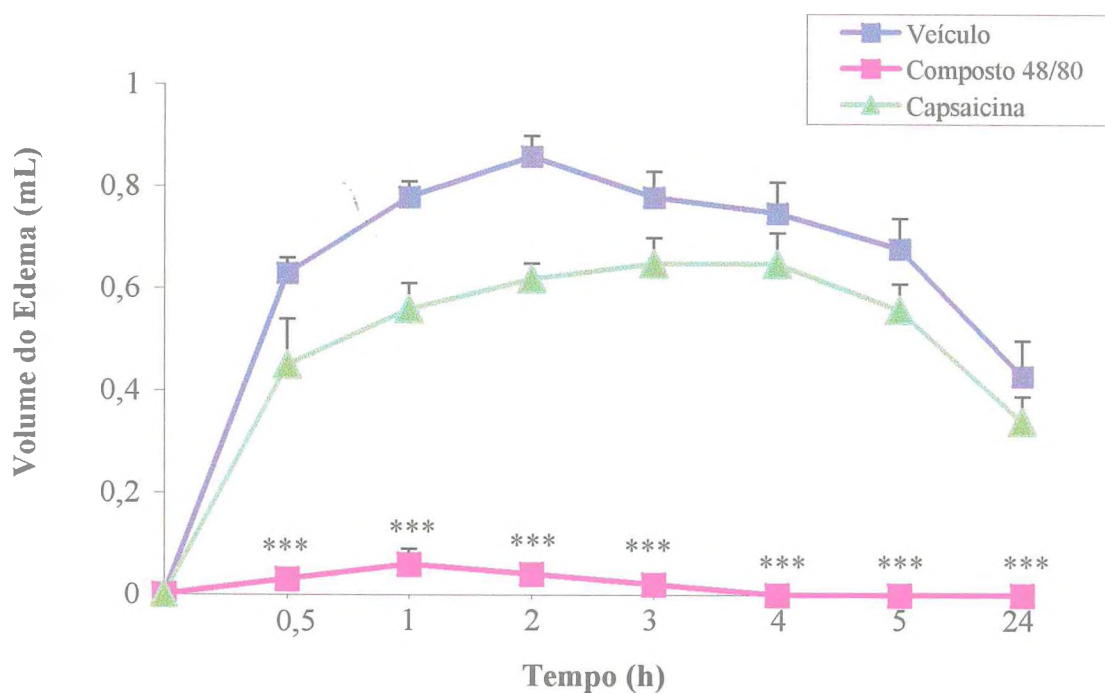


FIGURA 4 - Efeito do composto 48/80 e capsaicina sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos. O composto 48/80 (6 x 0,6 mg/Kg e 2 x 1,2 mg/Kg, i.p.) foi administrado diariamente, duas vezes ao dia, durante 4 dias consecutivos. Capsaicina (50 mg/Kg, s.c.) foi administrada, uma vez ao dia, durante dois dias consecutivos. Os animais controle receberam veículo (10 mL/Kg). O edema foi induzido pela injeção subplatar de cineol (20 μ L/pata), na pata posterior esquerda. Um volume igual de salina foi injetado na pata contralateral. Cada ponto representa a média \pm E.P.M. para 6 animais. *** $p < 0,001$ comparado ao veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.2.2.2. Efeito de Antagonistas de Mediadores Lipídicos

O pré-tratamento dos animais com as drogas antiinflamatórias não esteroidais, fenilbutazona (200 mg/Kg, v.o.) e indometacina (2 mg/Kg, v.o.) não afetaram significativamente a fase inicial (30 min e 1 h) do edema de pata induzido por cineol (20 μ L/pata), contudo foram capazes de reduzir o edema da 2^a a 24^a hora, de forma significativa ($p < 0,05$), sendo o efeito mais pronunciado na 3^a hora (**Figura 5**).

Ácido nordihidroguirético (75 mg/Kg, i.p.), um inibidor de lipoxigenase, e WEB 2170 (10 mg/Kg, i.p.), um antagonista do PAF, não afetaram significativamente o edema de pata induzido por cineol (20 μ L/pata) (**Figura 5**).

Dexametasona (0,5 mg/Kg, v.o.), um antiinflamatório esteroide e antialérgico, falhou em reduzir a fase inicial (30 min e 1 h) do edema, mas demonstrou significativa ($p < 0,05$) inibição na 2^a hora, assim como nos subseqüentes períodos de observação do edema de pata induzido por cineol (20 μ L/pata) (**Figura 5**).

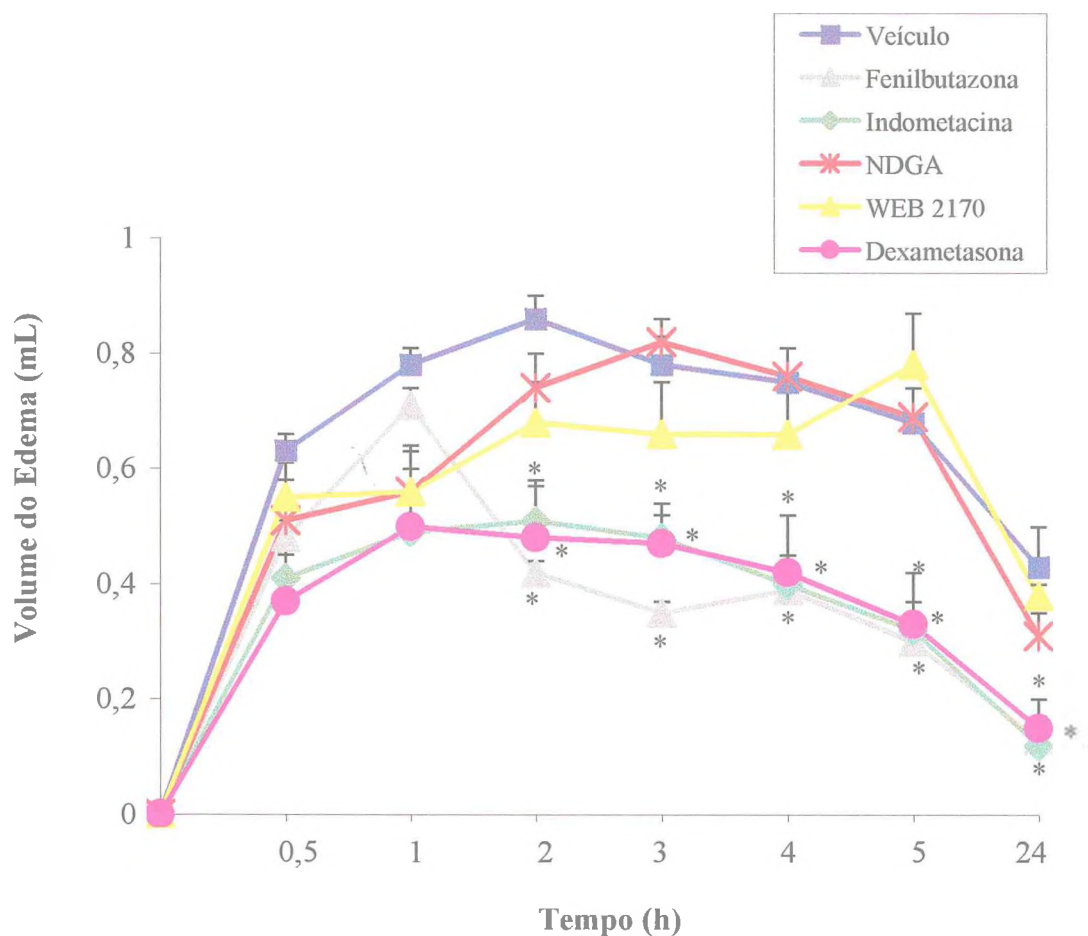


FIGURA 5 - Efeito de antagonistas de mediadores lipídicos sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos. Veículo (10 ml/Kg, v.o.), fenilbutazona (200 mg/Kg, v.o.), indometacina (2 mg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min antes, dexametasona (0,5 mg/Kg, v.o.) foi administrada 2 h antes e ácido nordihidroguirético (75 mg/Kg, i.p., NDGA) e WEB 2170 (10 mg/Kg, i.p.) 30 min antes da injeção subplantar de cineol (20 μ L/pata), na pata posterior esquerda de ratos. Um volume igual de salina foi injetado na pata contralateral. Cada ponto representa a média \pm E.P.M. para 6 animais. * $p < 0,05$ comparado ao veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.2.2.3. Efeito de Antihistamínicos, Antiserotoninérgicos e Estabilizadores de Membrana de Mastócitos

A **Figura 6** mostra que difenidramina (5 mg/Kg, v.o.), antihistamínico, metisergida (1 mg/Kg, v.o.), antagonista de receptor 5-HT, e ciproheptadina (5 mg/Kg, v.o.) antagonista de receptor histamínico e de 5-HT, reduziram significativamente o edema de pata induzido por cineol (20 µL/pata). A inibição do edema provocada por esses agentes foi significativa ($p < 0,001$) a 30 min, 1 e 2 h. Contudo, uma inibição significativa também foi observada com difenidramina na 3^a e 4^a hora ($p < 0,01$), com metisergida na 3^a hora ($p < 0,05$) e com ciproheptadina da 3^a a 5^a hora ($p < 0,01$). Estes agentes não foram capazes de inibir o edema na 24^a hora.

Cetotifeno (1 mg/Kg, v.o.), estabilizador de membrana de mastócitos, reduziu de forma significativa, em todos os períodos de observação, com exceção da 24^a hora, o edema induzido pela administração subplantar de cineol (20 µL/pata) (**Figura 6**).

Cromoglicato de sódio (75 mg/Kg, i.p.), estabilizador de membrana de mastócitos, reduziu de forma significativa o edema induzido por cineol (20 µL/pata), nos períodos de 30 min, 1, 2, e 3 h, não alterando de forma significativa a resposta edematogênica nos períodos de 4, 5 e 24 h (**Figura 6**).

5.2.2.4. Efeito de Antagonista do TNF- α

A **Figura 7** mostra que o pré-tratamento dos animais com talidomida (15 mg/Kg, v.o.) reduziu de forma significativa, em todos os períodos de observação, o edema de pata induzido pela administração subplantar de cineol (20 µL/pata).

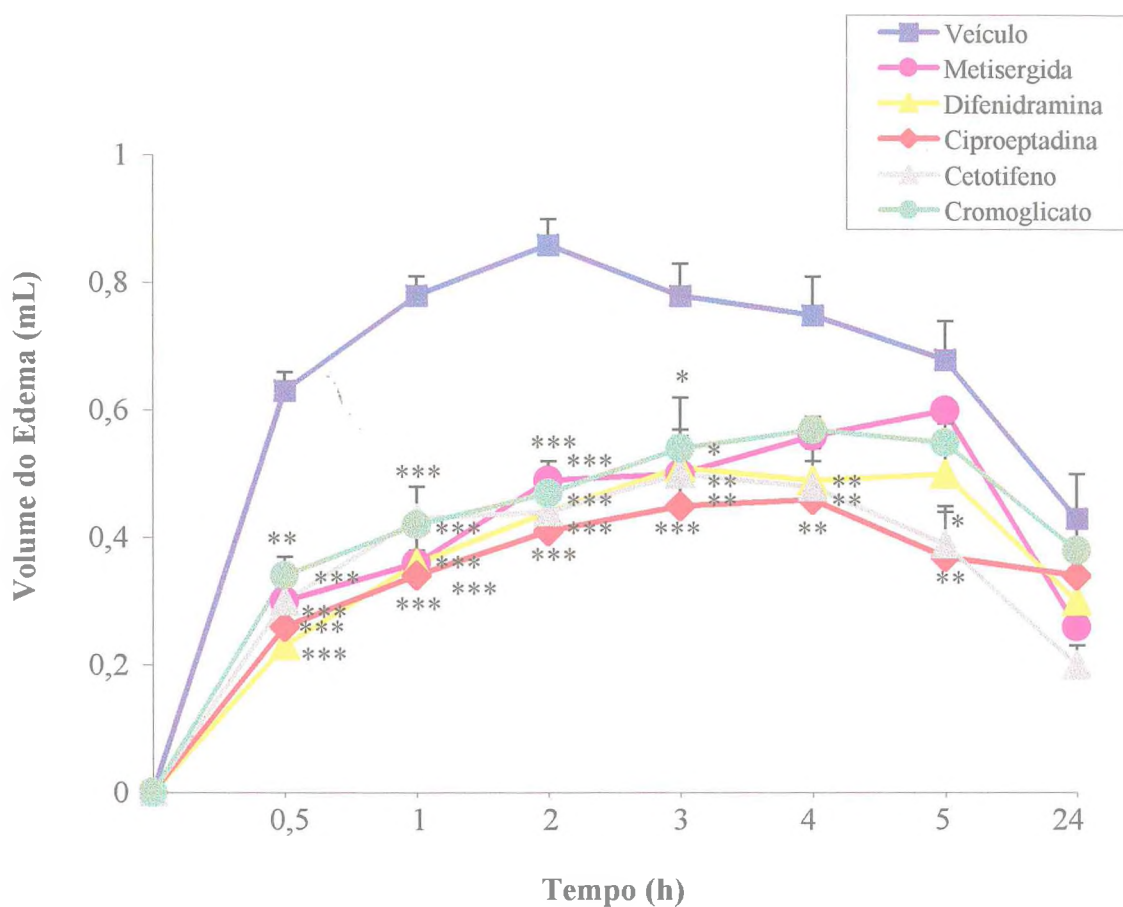


FIGURA 6 - Efeito de antihistamínicos, antiserotoninérgicos e estabilizadores de membrana de mastócitos sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos. Veículo (10 mL/Kg, v.o.), difenidramina (5 mg/Kg, v.o.), metisergida (1 mg/Kg, v.o.), ciprooptadina (5 mg/Kg, v.o.) e cetotifeno (1 mg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min antes, cromoglicato de sódio (75 mg/Kg, i.p.) foi administrado 30 min antes da injeção subplantar de cineol (20 μ L/pata), na pata posterior esquerda de ratos. Um volume igual de salina foi injetado na pata contralateral. Cada ponto representa a média \pm E.P.M. para 6 animais. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado ao veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

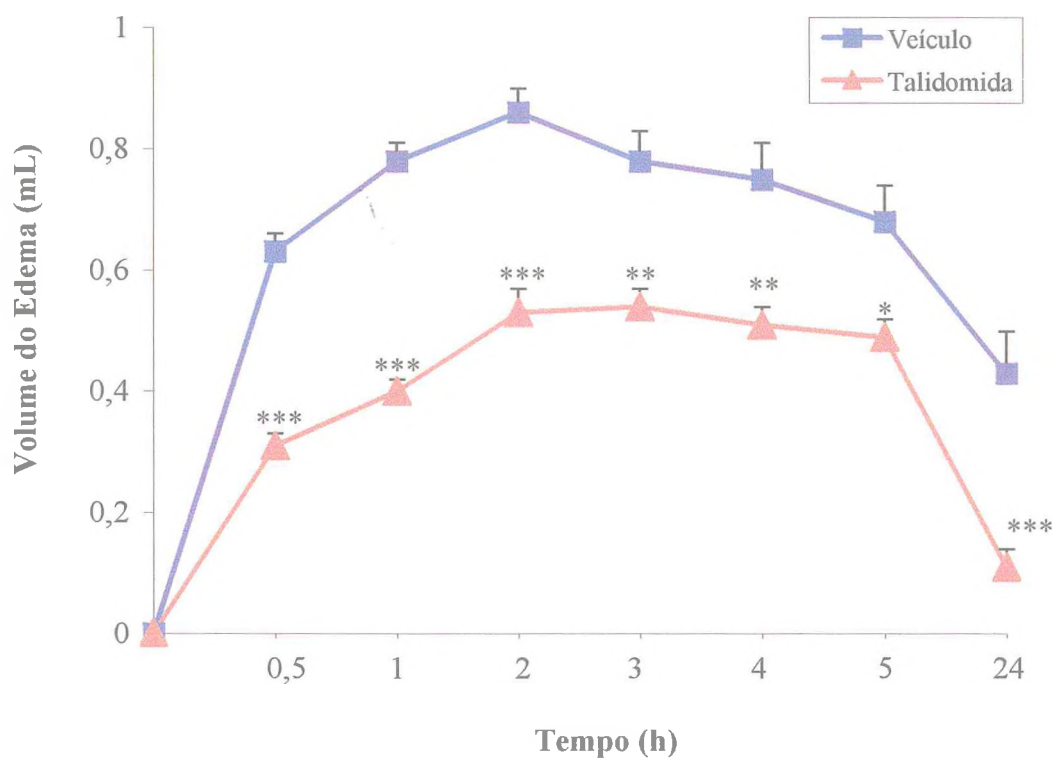


FIGURA 7 - Efeito de antagonista do TNF- α sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos. Veículo (10 mL/Kg, v.o.) e talidomida (15 mg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min antes da injeção subplantar de cineol (20 μ L/pata), na pata posterior esquerda de ratos. Um volume igual de salina foi injetado na pata contralateral. Cada ponto representa a média \pm E.P.M. para 6 animais. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado ao veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.2.2.5. Efeito de Antagonistas e Agonistas da Adenosina

O pré-tratamento dos animais com 8-fenilteofilina (8 mg/Kg, i.p.), um antagonista de receptor A₁ e A₂, não alterou significativamente o edema de pata induzido pela administração subplantar de cineol (20 µL/pata) (**Figura 8**).

Contudo, 5'-N-etilcarboxiadenosina (0,1 mg/Kg, i.p., NECA), agonista não seletivo de receptores A₁ e A₂, reduziu significativamente o edema de pata induzido por cineol (20 µL/pata) nos períodos de 30 min a 4^a hora, não alterando o edema na 5^a e 24^a hora (**Figura 8**).

5.2.2.6. Efeito de Cineol Sistêmico

A **Figura 9** mostra que o tratameno sistêmico com cineol, não alterou, em nenhum período de observação, o edema de pata induzido por cineol.

5.2.3. Efeito de Cineol sobre a Degranulação de Mastócitos Peritoneais *in vitro*

As **Figuras 10 e 11** mostram o aumento significativo do percentual de mastócitos degranulados após incubação com cineol e composto 48/80.

O percentual de células degranuladas no controle (veículo) foi de 13 ± 3 %.

Cineol nas concentrações de 0,56; 1,67 e 5,58 mM induziu a degranulação de mastócitos na ordem de 61 ± 4 ; 94 ± 2 e 87 ± 6 %, respectivamente, demonstrando um aumento significativo ($p < 0,001$) na degranulação quando comparado ao controle.

Composto 48/80 induziu 87 ± 7 ; 96 ± 1 e 97 ± 2 % de degranulação, nas concentrações de 0,05; 0,16 e 0,48 µM, respectivamente, também demonstrando

um aumento significativo ($p < 0,001$) na degranulação quando comparado ao controle.

NECA ($3,24 \mu\text{M}$) reduziu de forma significativa ($p < 0,01$) o percentual de degranulação promovido por cineol ($14 \pm 4 \%$) quando comparado a cineol ($1,67 \text{ mM}$) sozinho ($94 \pm 2 \%$).

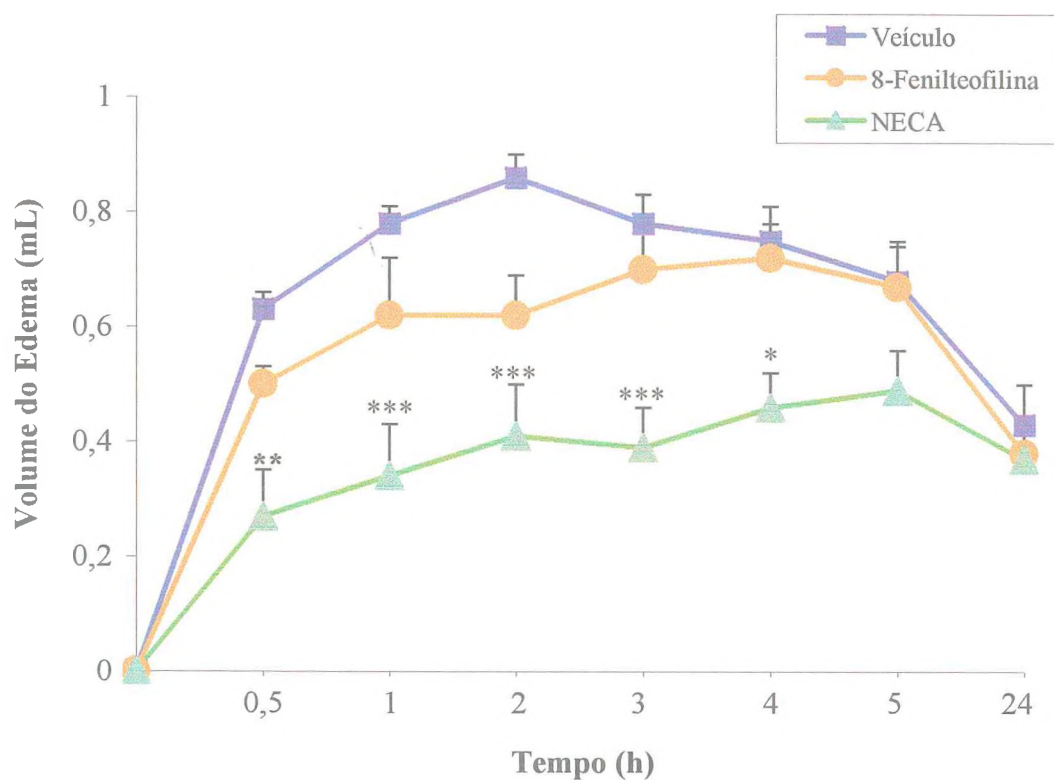


FIGURA 8 - Efeito de 8-fenilteofilina e NECA sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos. Veículo (10 mL/Kg, i.p.), 8-fenilteofilina (8 mg/Kg, i.p.) ou 5'-N-etilcarboxamidoadenosina (0,1 mg/Kg, i.p., NECA) foram administrados 30 min antes da injeção subplantar de cineol (20 μ L/pata), na pata posterior esquerda de ratos. Um volume igual de salina foi injetado na pata contralateral. Cada ponto representa a média \pm E.P.M. para 6 animais. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado ao veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

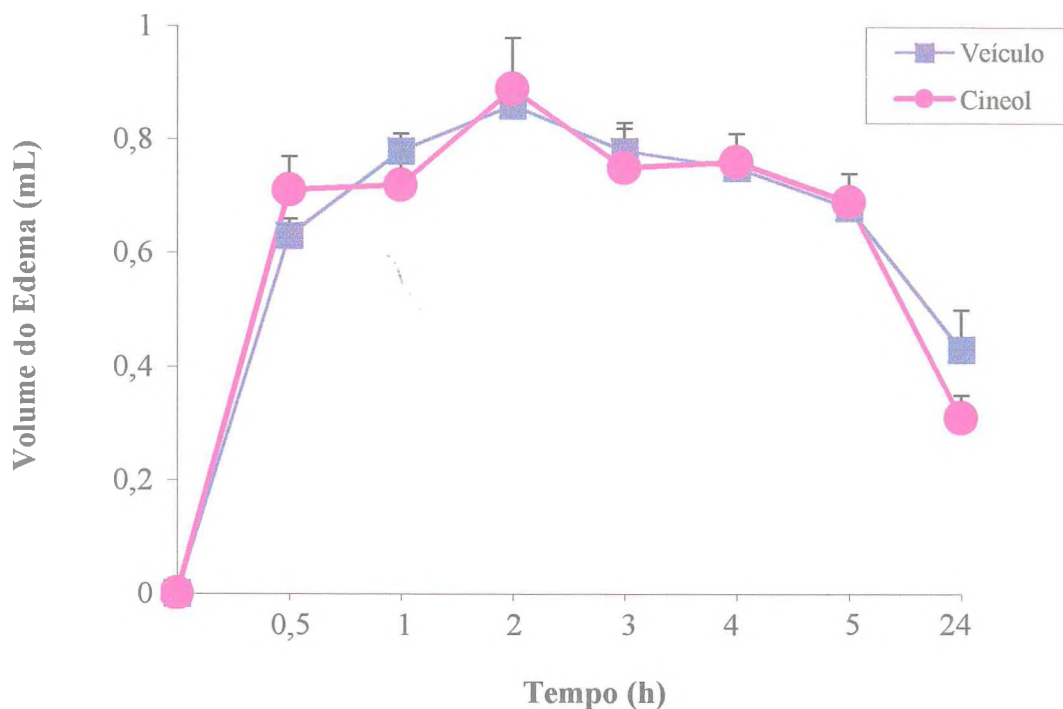


FIGURA 9 - Efeito de cineol sistêmico sobre o edema de pata induzido por cineol em ratos. Veículo (2 % de Tween 80 em água destilada) e cineol (400 mg/Kg) foram administrados, por via oral, duas vezes ao dia, durante 4 dias consecutivos. Após 5-6 h do último tratamento os animais receberam uma injeção subplantar de cineol (20 μ L/pata), na pata posterior esquerda de ratos. Um volume igual de salina foi injetado na pata contralateral. Cada ponto representa a média \pm E.P.M. para 6 animais.

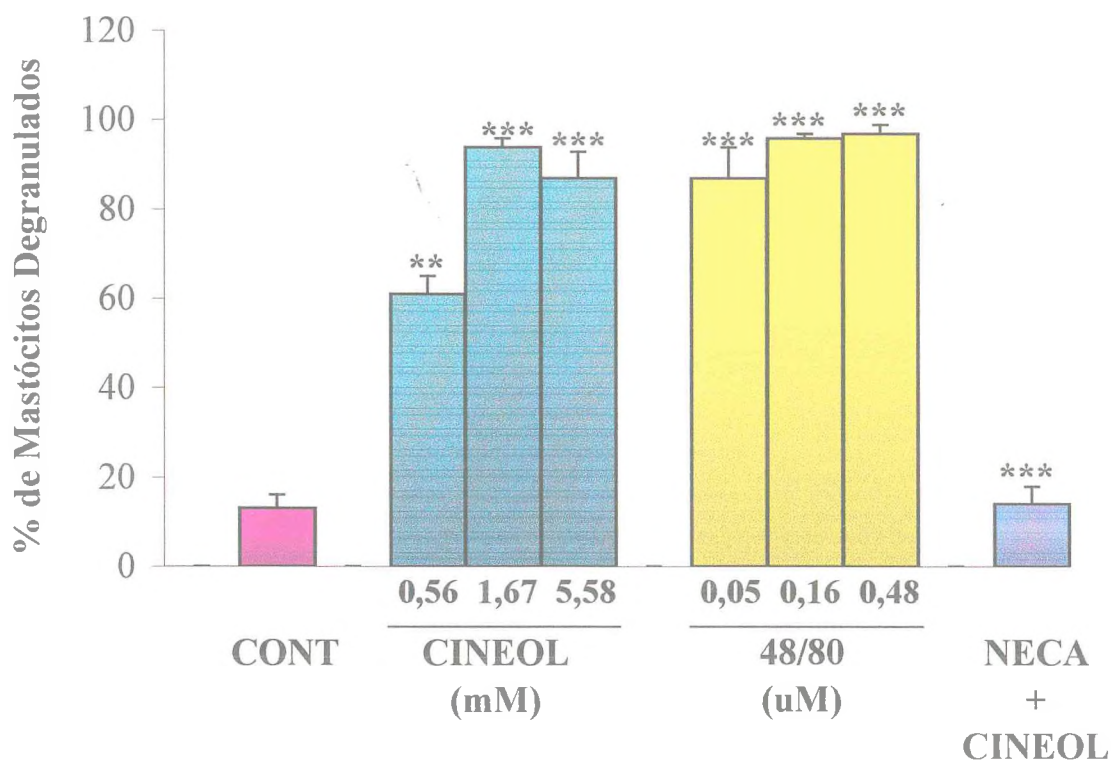


FIGURA 10 - Efeito de cineol e composto 48/80 sobre a degranulação de mastócitos peritoneais *in vitro*. Os valores representam a média \pm E.P.M. do percentual de mastócitos degranulados. Veículo (controle, CONT), cineol (0,56; 1,67 e 5,58 mM), composto 48/80 (0,05; 0,16 e 0,48 μ M) ou NECA (1 μ g/mL) + cineol (1,67 mM) foram incubados com mesentério por 30 minutos. Foram contados, em cinco campos aleatórios, para cada concentração, o percentual de mastócitos degranulados. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado ao controle veículo (Kruskal-Wallis e Teste de Dunnett).

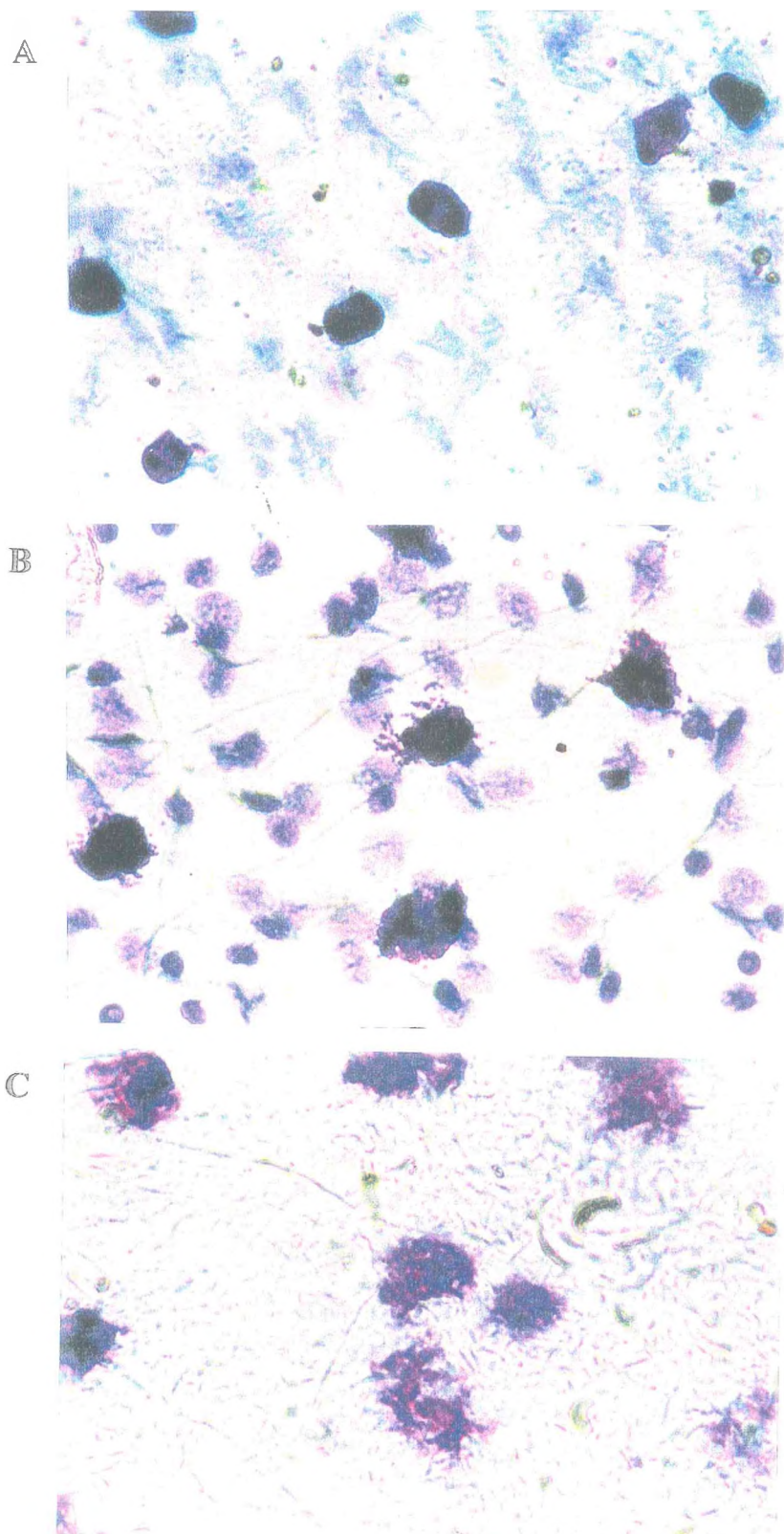


FIGURA 11 - Microfotografias de mesentérios. Mesentério incubado com veículo (A), composto 48/80 0,48 μM (B) e cineol 1,67 mM (C) (HE, 400x).

5.3. ATIVIDADE PRÓ-NOCICEPTIVA DO CINEOL

5.3.1. Resposta Nociceptiva Local de Cineol e Composto 48/80 em Camundongos

A **Figura 12a** mostra que cineol nas concentrações de 10, 20 e 40 $\mu\text{L/pata}$ promove nocicepção, evidenciada pelo ato do animal lambar a pata, durante o período de observação. O tempo gasto pelo animal lambendo a pata foi de $89,14 \pm 28,90$ seg, $148,75 \pm 9,05$ seg e $100,86 \pm 24,42$ seg para as concentrações de 10, 20 e 40 $\mu\text{L/pata}$.

O Composto 48/80 nas concentrações de 2,5; 5 e 10 $\mu\text{g/pata}$ também evoca uma resposta nociceptiva, evidenciada pelo ato do animal lambar a pata, durante o período de observação (**Figura 12b**). O tempo gasto pelo animal lambendo a pata foi de $7,25 \pm 4,40$ seg, $59,50 \pm 7,92$ seg e $46,12 \pm 10,34$ seg para as doses de 2,5; 5 e 10 $\mu\text{g/pata}$.

5.3.2. Caracterização Farmacológica da Nocicepção Local induzida por Cineol em Camundongos

Para a caracterização farmacológica da nocicepção local induzida por cineol, utilizamos a dose de 20 $\mu\text{L/pata}$, que foi a dose que produziu uma resposta nociceptiva máxima.

5.3.2.1. Efeito do Composto 48/80

A **Figura 13** demonstra que o pré-tratamento dos animais com Composto 48/80, para depletar os estoques de histamina e 5-HT dos mastócitos, não modificou a resposta nociceptiva evocada por cineol nas concentrações de 10, 20 e 40 $\mu\text{L/pata}$, que foi de $102,40 \pm 27,30$; $149,23 \pm 20,69$ e $52,80 \pm 21,61$ seg,

respectivamente, quando comparada aos animais controle que foi de $89,14 \pm 28,90$; $148,75 \pm 9,05$ e $100,86 \pm 24,42$ seg, respectivamente.

Contudo o pré-tratamento dos animais com Composto 48/80 reduziu a resposta nociceptiva evocada por Composto 48/80 nas doses de 2,5; 5 e 10 $\mu\text{g/pata}$, que foi de $4,00 \pm 2,02$; $3,17 \pm 1,35$ e $13,80 \pm 3,48$ seg, respectivamente quando comparada a animais controle que foi de $7,25 \pm 4,40$; $59,50 \pm 7,92$ e $46,12 \pm 10,34$ seg, respectivamente. A redução foi significativa ($p < 0,05$) para as doses de 5 e 10 $\mu\text{g/pata}$.

5.3.2.2. Efeito da Capsaicina

O pré-tratamento dos animais com capsaicina (2 x 50 mg/Kg, s.c.) não bloqueou a atividade nociceptiva de cineol (20 $\mu\text{L/pata}$) que foi de $122,14 \pm 19,70$ seg quando comparado a animais controle que foi de $148,75 \pm 9,05$ seg

5.3.2.3. Efeito de Antihistamínicos, Antiserotonérgicos e Estabilizadores de Membrana de Mastócitos

A **Figura 14** mostra que o pré-tratamento dos animais com difenidramina (5 mg/Kg, v.o.), metisergida (1 mg/Kg, v.o.) e ciproeptadina (5 mg/Kg, v.o.) reduziram a nocicepção induzida por cineol (20 $\mu\text{L/pata}$) de um valor de $148,75 \pm 9,05$ seg (controle) para $44,00 \pm 15,93$; $92,91 \pm 20,47$ e $15,50 \pm 8,92$ seg, respectivamente. Esta redução foi significativa ($p < 0,05$) apenas para difenidramina e ciproeptadina.

O pré-tratamento dos animais com cetotifeno (1 mg/Kg, v.o.) ou cromoglicato de sódio (75 mg/Kg, i.p.) não alterou a resposta nociceptiva evocada por cineol (20 $\mu\text{L/pata}$) que foi de $144,00 \pm 30,72$ e $166,33 \pm 26,07$ seg, respectivamente, quando comparada ao controle ($148,75 \pm 9,05$ seg).

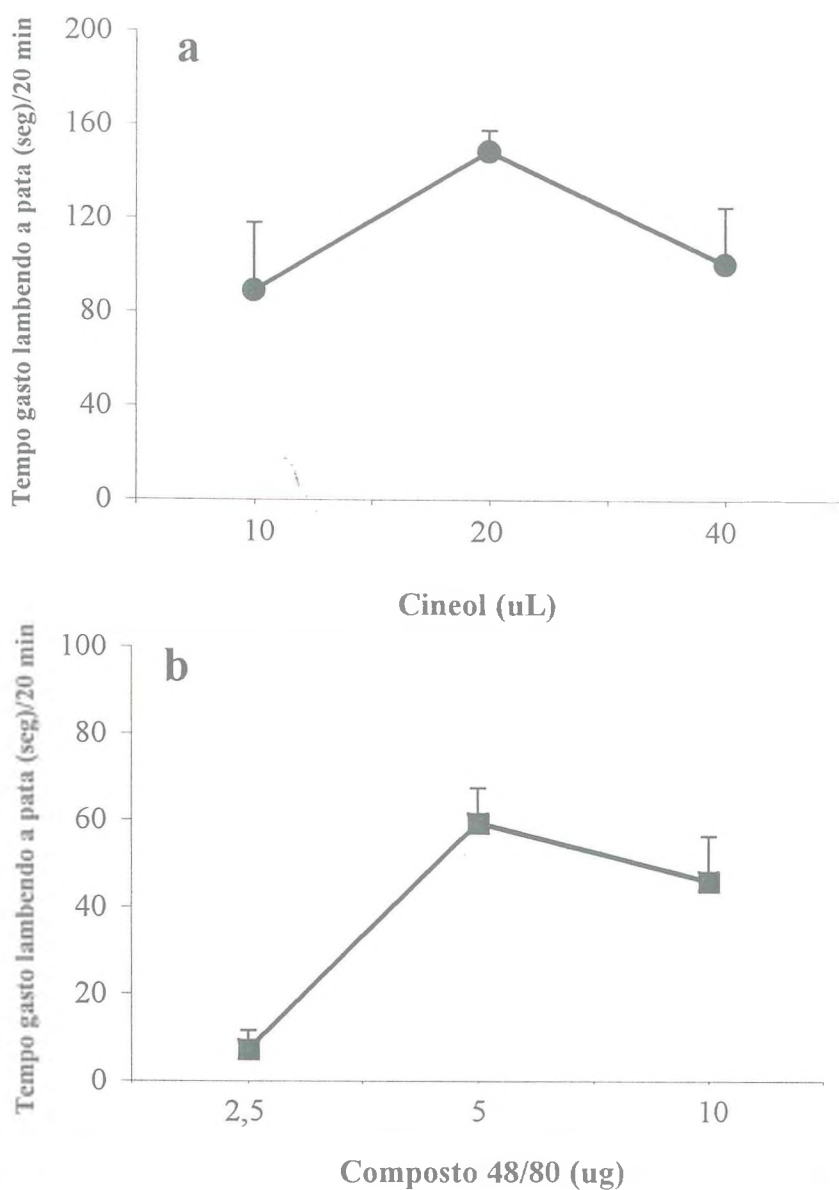


FIGURA 12 - Resposta nociceptiva local de cineol e composto 48/80 em camundongos. Os valores representam a média \pm E.P.M. do tempo gasto pelo animal lambendo a pata (seg), durante 20 min, após a administração de cineol (a) (10, 20 e 40 μ L/pata) ou Composto 48/80 (b) (2,5; 5 e 10 μ g/pata). Foram utilizados grupos de 8 animais cada.

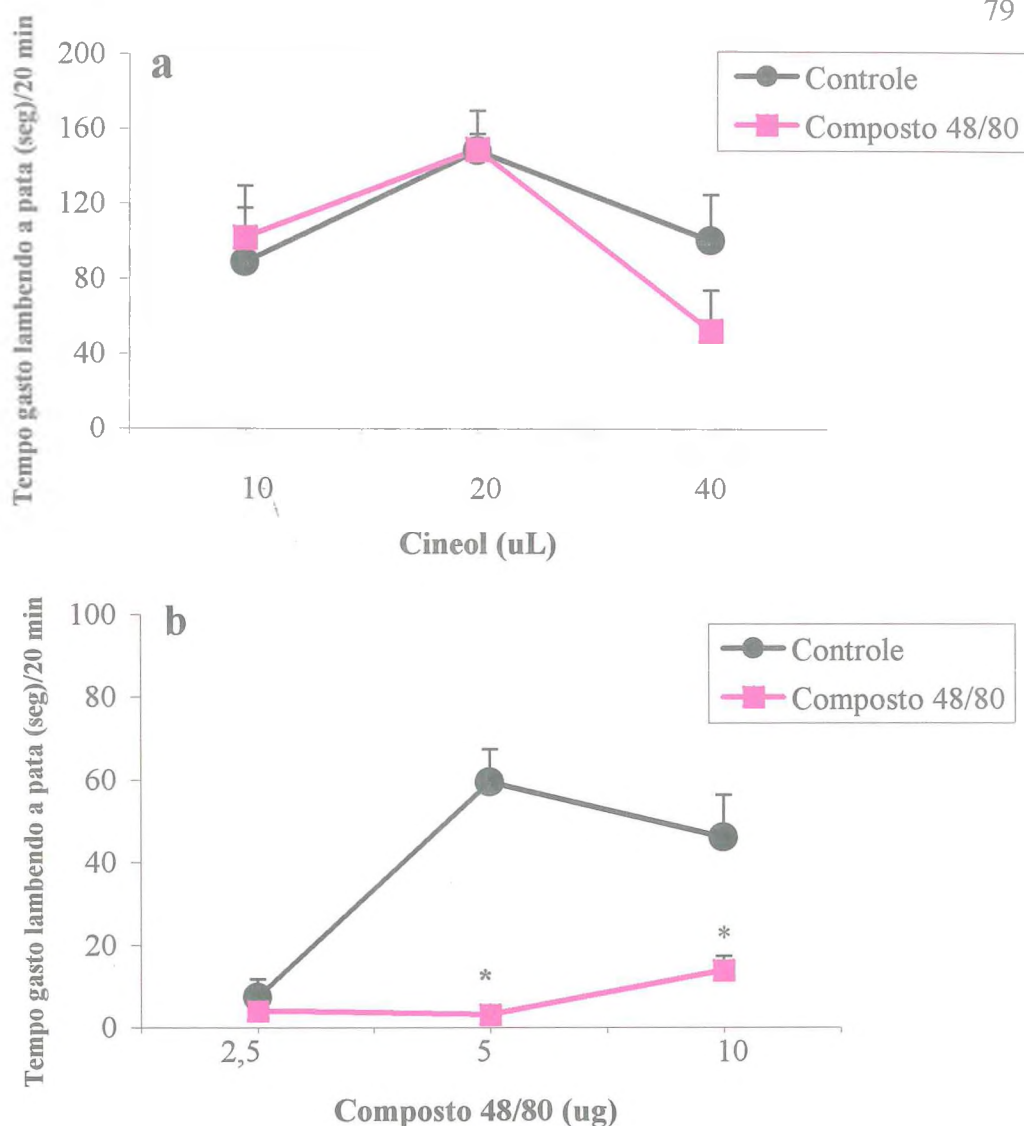


FIGURA 13 - Efeito do composto 48/80 sobre a nociceção local de cineol e composto 48/80 em camundongos. O Composto 48/80 (6 x 0,6 mg/Kg e 2 x 1,2 mg/Kg, i.p.) foi administrado, duas vezes ao dia, durante quatro dias consecutivos. Os valores representam a média \pm E.P.M. do tempo gasto pelo animal lambendo a pata (seg), durante 20 min, após a administração de cineol (a) (10, 20 e 40 μ L/pata) ou Composto 48/80 (b) (2,5; 5 e 10 μ g/pata). Foram utilizados grupos de 8 animais cada. * $p < 0,05$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

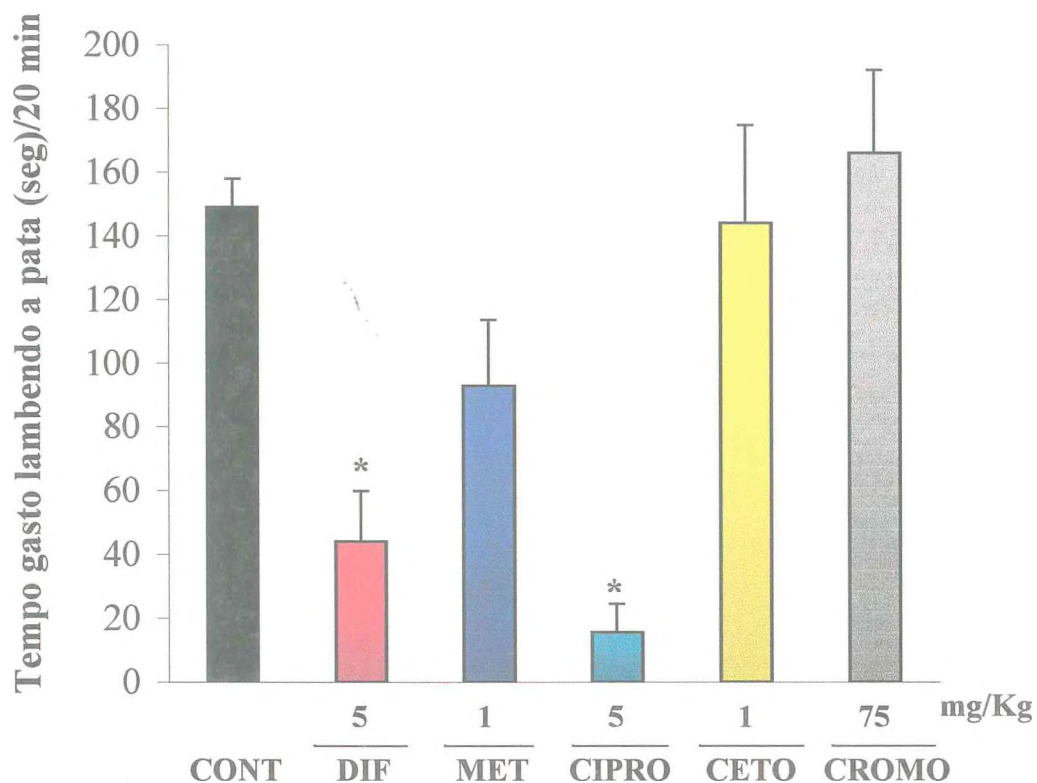


FIGURA 14 - Efeito de antihistamínicos, antiserotoninérgicos e estabilizadores de membrana de mastócitos sobre a nociceção local de cineol em camundongos. Veículo (10 mL/Kg, controle, CONT), difenidramina (5 mg/Kg, v.o., DIF), metisergida (1 mg/Kg, v.o., MET), ciproetadina (5 mg/Kg, v.o., CIPRO) e cetotifeno (1 mg/Kg, v.o., CETO) foram administrados 45 min antes e cromoglicato de sódio (75 mg/Kg, i.p., CROMO) 30 min antes da administração subplantar de cineol (20 μ L/pata). Foram utilizados grupos de 8 animais cada. * $p < 0,05$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.3.2.4. Efeito de Analgésico Opióide, Antagonista da Óxido Nítrico Sintase Neuronal e Antagonista de Receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA)

Morfina (10 mg/Kg, i.p.), analgésico opióide, e cetamina (25 mg/Kg, i.p.), antagonista não competitivo do receptor NMDA, reduziram de forma significativa, a resposta nociceptiva induzida pela administração subplantar de cineol (20 μ L/pata) que foi de $1,25 \pm 0,52$ e $20,50 \pm 5,28$ seg, respectivamente, sendo o controle de $148,75 \pm 9,05$ seg (**Figura 15**).

Contudo, 7-nitroindazol (50 mg/Kg, i.p.), antagonista da óxido nítrico sintase neuronal, não reduziu de forma significativa ($85,68 \pm 16,47$ seg) a resposta nociceptiva de cineol ($148,75 \pm 9,05$ seg) (**Figura 15**).

5.3.2.5. Efeito de Antagonistas e Agonistas da Adenosina

O antagonista não seletivo de receptores da adenosina, cafeína (20 mg/Kg, i.p.) e o antagonista de receptores A_1 e A_2 , 8-fenilteofilina (8 mg/Kg, i.p.) aumentaram o tempo de nocicepção promovido pela administração de cineol (20 μ L/pata) de um valor de $148,75 \pm 9,05$ seg (controle) para $266,50 \pm 13,37$ e $176,93 \pm 19,59$ seg respectivamente. Sendo este aumento significativo ($p < 0,05$) apenas para a cafeína (**Figura 16**).

Em contraste, CPA (0,3 mg/Kg, i.p.) agonista seletivo de receptores A_1 , e NECA (0,01 mg/Kg, i.p.), agonista não seletivo de receptores A_1 e A_2 , assim como nifedipina (10 mg/Kg, v.o.) inibiram de forma significativa ($p < 0,05$) a resposta nociceptiva promovida por cineol (20 μ L/pata). Os valores foram de $44,73 \pm 10,18$ seg (CPA), $28,00 \pm 11,76$ seg (NECA), $8,99 \pm 3,48$ Seg (nifedipina) e $148,75 \pm 9,05$ seg (controle) (**Figura 16**).

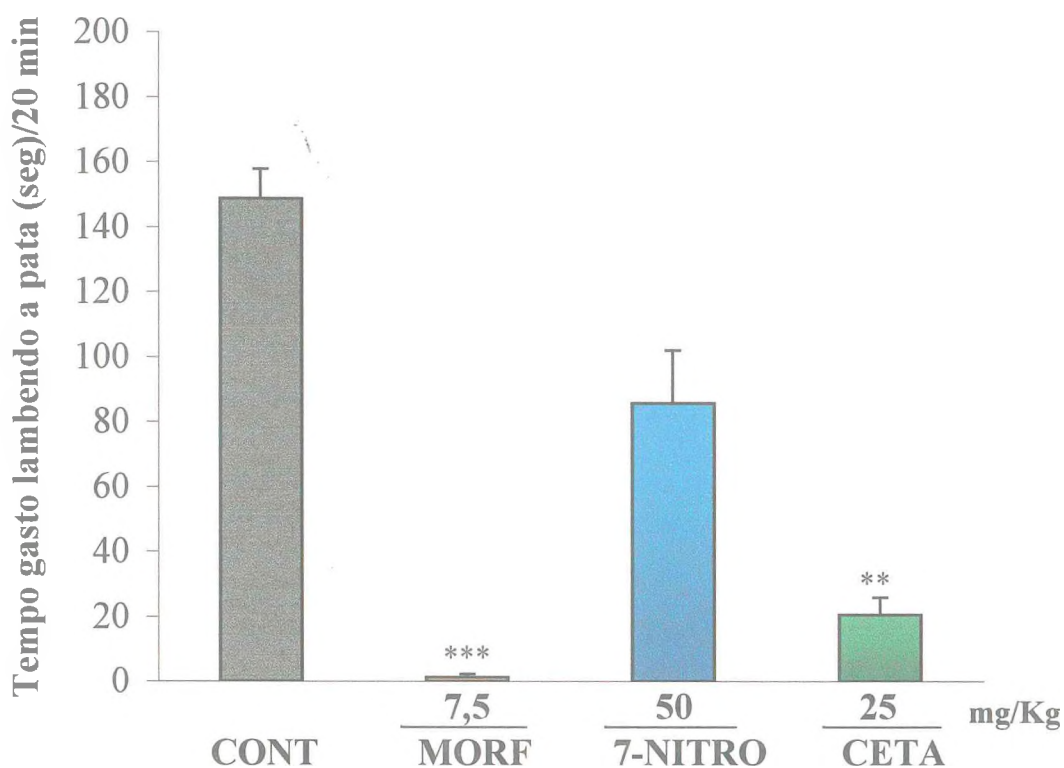


FIGURA 15 - Efeito de morfina, 7-nitroindazol e cetamina sobre a nociceção local de cineol em camundongos. Veículo (10 mL/Kg, controle, CONT), morfina (10 mg/Kg, i.p., MORF), 7-nitroindazol (50 mg/Kg, i.p.) e cetamina (25 mg/Kg, s.c., CETA) foram administrados 30 min antes da administração subplantar de cineol (20 μ L/pata). Foram utilizados grupos de 8 animais cada. ** $p < 0,01$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

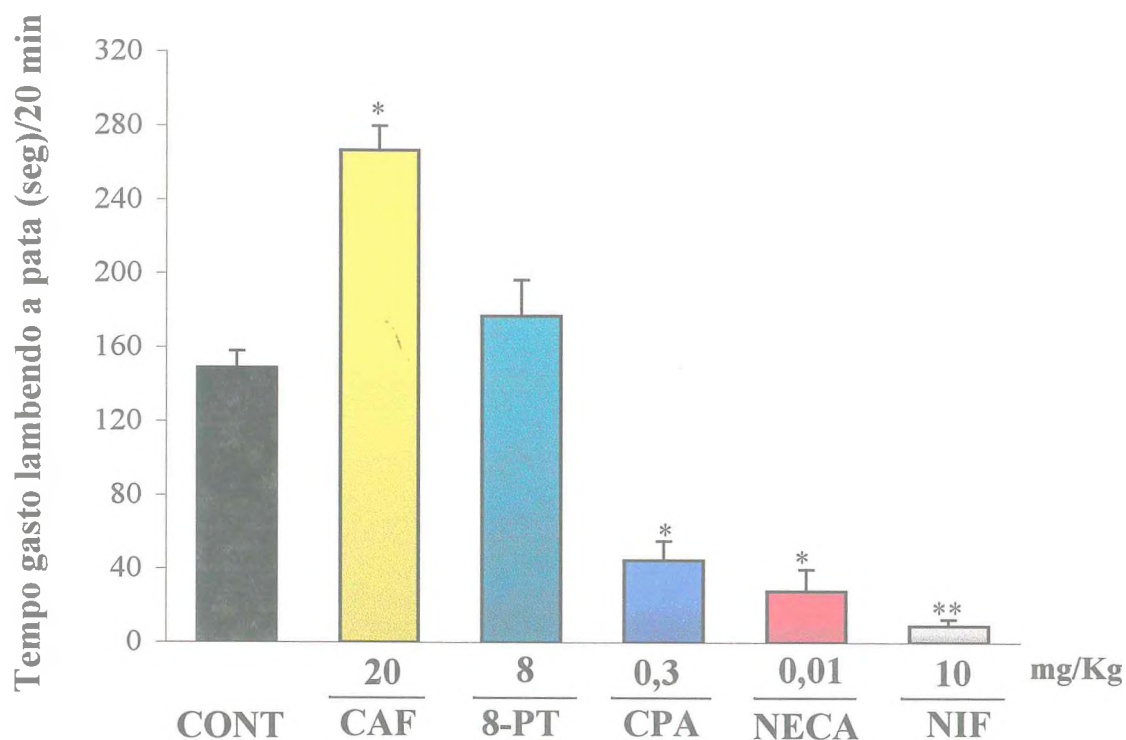


FIGURA 16 - Efeito de antagonistas e agonistas da adenosina sobre a nocicepção local de cineol em camundongos. Veículo (10 mL/Kg, controle, CONT), cafeína (20 mg/Kg, i.p., CAF), 8-fenilteofilina (8 mg/Kg, i.p., 8-PT), N⁶-ciclopentiladenosina (0,3 mg/Kg, i.p., CPA) e 5'-N-etilcarboxamidoadenosina (0,01 mg/Kg, i.p., NECA) foram administrados 30 min antes e nifedipina (10 mg/Kg, v.o., NIF) foi administrada 45 min antes da administração subplantar de cineol (20 µL/pata). Foram utilizados grupos de 8 animais cada. * p < 0,05; ** p < 0,01 comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.4. ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO CINEOL

5.4.1. Efeito do Cineol sobre o Edema de Pata induzido por Carragenina em Ratos

A **Tabela 1** e **Figura 17** mostram o efeito antiedematogênico da administração oral de cineol sobre o edema de pata induzido por carragenina em ratos. Cineol nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg, v.o., reduziu o volume do edema de $0,72 \pm 0,03$ mL (controle) para $0,55 \pm 0,08$; $0,55 \pm 0,04$ e $0,39 \pm 0,07$ mL respectivamente, mostrando um efeito antiedematogênico significativo ($p < 0,01$) na dose de 400 mg/Kg.

Indometacina (5 mg/Kg, v.o.), um antiinflamatório padrão, reduziu significativamente ($p < 0,01$) o edema induzido pela carragenina de um valor controle de $0,72 \pm 0,03$ mL para $0,27 \pm 0,04$ mL.

Teofilina (10 mg/Kg, i.p.), um antagonista não seletivo de receptores da adenosina, não antagonizou o efeito antiedematogênico de cineol (400 mg/Kg) observado pelo volume do edema de $0,41 \pm 0,08$ mL quando comparado a cineol sozinho ($0,39 \pm 0,07$ mL).

5.4.2. Efeito do Cineol sobre o Edema de Pata induzido por Dextrana em Ratos

A **Tabela 2** mostra o efeito da administração oral de cineol no edema de pata induzido por dextrana em ratos.

O volume do edema (mL) para os animais tratados com cineol nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg foi de $0,56 \pm 0,03$; $0,61 \pm 0,04$ e $0,63 \pm 0,03$ mL respectivamente, enquanto para o controle foi de $0,55 \pm 0,05$ mL. Demonstrando que cineol não alterou o edema de pata induzido por dextrana quando comparado ao controle.

Contudo, ciproeptadina (10 mg/Kg, v.o.), droga antihistamínica e antiserotoninérgica, reduziu de forma significativa ($p < 0,01$) o volume do edema de $0,55 \pm 0,05$ mL (controle) para $0,23 \pm 0,04$ mL.

5.4.3. Efeito do Cineol sobre o Granuloma induzido por “Pellet” de Algodão em Ratos

A média de peso dos granulomas formados, após 7 dias da implantação, foi de $1232,94 \pm 46,85$ mg (peso úmido) e $711,38 \pm 39,24$ mg (peso seco) para o controle (veículo). O tratamento dos animais com cineol 400 mg/Kg, v.o., resultou em diminuição significativa ($p < 0,001$) do peso úmido ($772,38 \pm 72,90$ mg) e peso seco ($394,25 \pm 43,33$ mg) dos “pellets” quando comparado ao controle. A dose de 200 mg/Kg, v.o., de cineol apenas foi capaz de reduzir de forma significativa ($p < 0,001$) o peso seco ($395,60 \pm 26,06$ mg) quando comparado ao controle ($711,38 \pm 39,24$ mg) (Tabela 3 e Figura 18).

Indometacina (5 mg/Kg, v.o.) foi capaz de reduzir significativamente ($p < 0,001$) o peso úmido ($918,67 \pm 63,16$ mg) e seco ($322,00 \pm 29,58$ mg) dos “pellets” de algodão quando comparado ao controle (Tabela 3 e Figura 18).

TABELA 1 - Efeito do cineol e indometacina no edema de pata induzido por carragenina em ratos.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Volume do Edema (mL) na 3 ^a hora	% de Inibição
Controle (veículo)	-	0,72 ± 0,03	-
Cineol			
	100, v.o.	0,55 ± 0,08	26
	200, v.o.	0,55 ± 0,04	26
	400, v.o.	0,39 ± 0,07**	46
Teofilina	10, i.p.		
+	+	0,41 ± 0,08**	43
Cineol	400, v.o.		
Indometacina	5, v.o.	0,27 ± 0,04***	62

Os valores representam a média ± E.P.M. do volume do edema (mL) após 3 h da administração da carragenina. Veículo (controle), cineol e indometacina foram administrados 45 min antes da injeção subplantar de carragenina 1 % (0,1 mL/pata). Teofilina foi administrada 15 min antes da administração de cineol. Foram utilizados grupos de 6 animais cada. ** p < 0,01, *** p < 0,001 comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

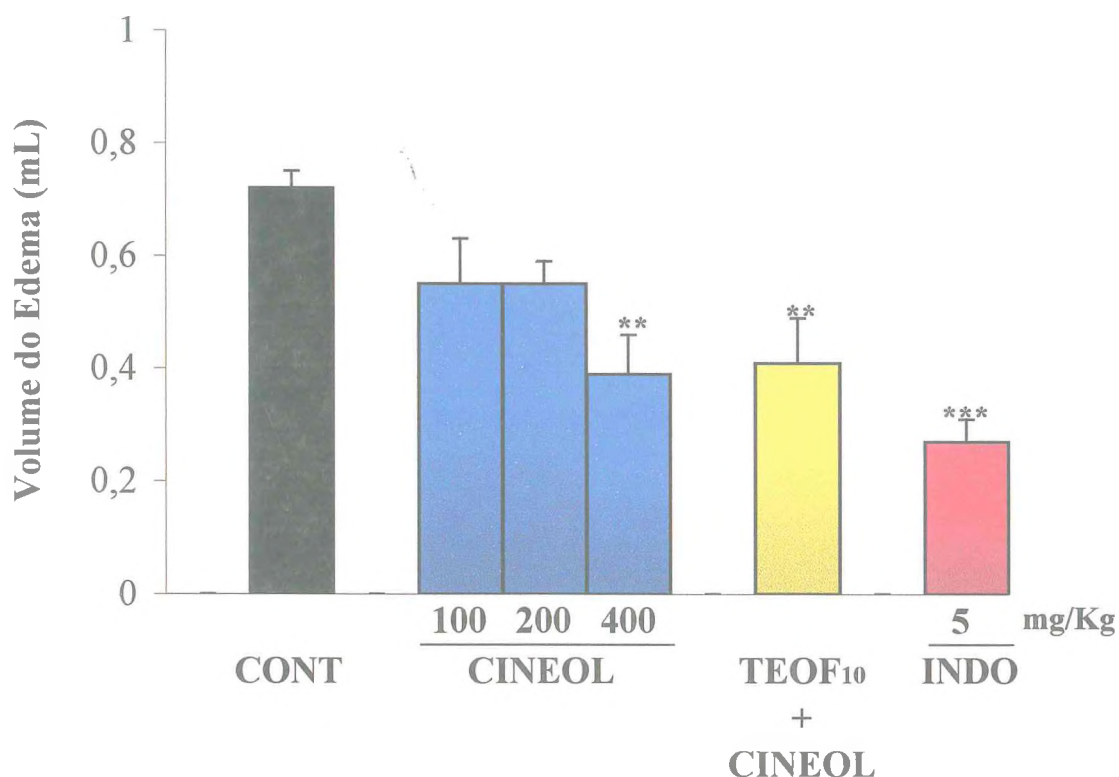


FIGURA 17 - Efeito da administração oral de cineol sobre o edema de pata induzido por carragenina em ratos. Cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.), indometacina (5 mg/Kg, v.o., INDO) e veículo (controle) foram administrados 45 min antes da injeção subplantar de carragenina 1 % (0,1 mL/pata). Teofilina (10 mg/Kg, i.p., TEOF₁₀) foi administrada 15 min antes da administração de cineol (400 mg/Kg, v.o.). Os valores representam a média \pm E.P.M. do volume do edema (mL) 3 horas após a administração de carragenina. Foram utilizados 6 animais por grupo. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

TABELA 2 - Efeito do cineol e ciproeptadina no edema de pata induzido por dextrana em ratos.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Volume do Edema (mL) na 2^a hora
Controle (veículo)	-	0,55 ± 0,05
Cineol		
	100	0,56 ± 0,03
	200	0,61 ± 0,04
	400	0,63 ± 0,03
Ciproeptadina		
	10	0,23 ± 0,04 ^{**}

Os valores representam a média ± E.P.M. do volume do edema (mL) após 2 h da administração da dextrana. Veículo (controle), cineol e ciproeptadina foram administrados 45 min antes da injeção subplantar de dextrana 1,5 % (0,1 mL/pata). Foram utilizados grupos de 6 animais cada. ^{**} p < 0,01 comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

TABELA 3 - Efeito do cineol e indometacina no granuloma induzido por “pellet” de algodão em ratos.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Peso dos Granulomas (mg)	
		Úmido	Seco
Controle (veículo)	-	1232,94 ± 46,85	711,38 ± 39,24
Cineol			
	100	1246,00 ± 100,52	781,00 ± 79,19
	200	1322,70 ± 71,61	395,60 ± 26,06 ^{***}
	400	772,38 ± 72,90 ^{***}	394,25 ± 43,33 ^{***}
Indometacina			
	5	918,67 ± 63,16 ^{***}	322,00 ± 29,58 ^{***}

Os valores representam a média ± E.P.M. do peso (mg) dos granulomas após 7 dias do implante dos “pellets” de algodão (50 ± 1 mg/cada). Veículo (controle), cineol e indometacina foram administrados, uma vez ao dia, durante todo o período do experimento (7 dias). O peso úmido dos granulomas foi verificado imediatamente após a remoção e o peso seco após 24 h de secagem em estufa a 60 °C. Foram utilizados grupos de oito animais cada. ^{***} p < 0,001 comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keuls).

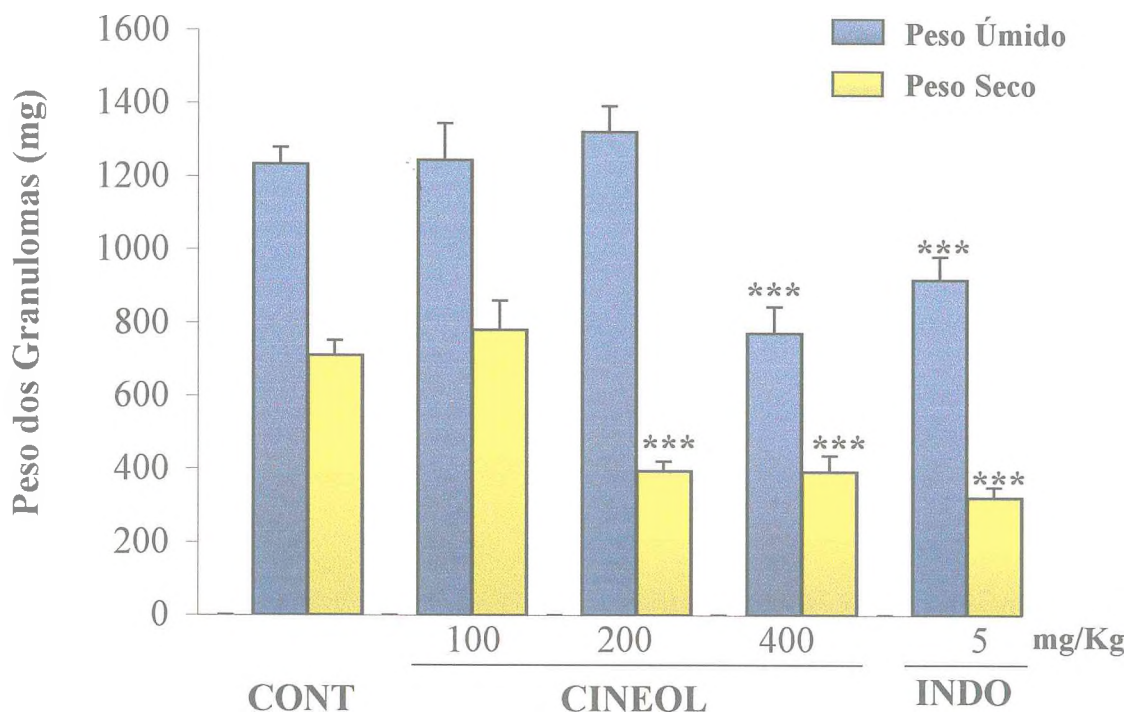


FIGURA 18 - Efeito da administração oral do cineol no granuloma induzido por “pellet” de algodão em ratos. Cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.), indometacina (5 mg/Kg, v.o., INDO) e veículo (10 mL/Kg, v.o., CONT) foram administrados diariamente, uma vez ao dia, durante 7 dias após a implantação de “pellets” de algodão (50 ± 1 mg/cada) no dorso dos animais. O peso úmido dos granulomas foi tomado imediatamente após a remoção (7^o dia) e o peso seco após 2 h de secagem em estufa a 60 °C. Foram utilizados 8 animais por grupo. *** $p < 0,001$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.4.4. Efeito do Cineol sobre o aumento da Permeabilidade Capilar induzida por Ácido Acético em Camundongos

Os grupos de animais tratados com cineol nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg, v.o., apresentaram extravasamento do corante de $9,85 \pm 1,90$; $5,88 \pm 0,50$ e $5,60 \pm 0,60$ μg de Azul de Evans, respectivamente, enquanto que o grupo controle e aquele tratado com a droga padrão utilizada, ácido acetilsalicílico (250 mg/Kg, v.o.), apresentaram intensidade de coloração de $9,08 \pm 0,80$ e $5,47 \pm 0,40$ μg de Azul de Evans, respectivamente.

Cineol nas doses de 200 e 400 mg/Kg, v.o., apresentou atividade semelhante ao ácido acetilsalicílico, uma vez que apresentou percentagens de inibição da permeabilidade capilar de 35 e 38 %, respectivamente, enquanto que o ácido acetilsalicílico inibiu a permeabilidade capilar em 39 % (**Tabela 4 e Figura 19**).

TABELA 4 - Efeito do cineol e indometacina no aumento da permeabilidade capilar induzida por ácido acético em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Concentração de Azul de Evans (μg)	% de Inibição
Controle (veículo)	-	$9,08 \pm 0,80$	-
Cineol			
	100	$9,85 \pm 1,90$	0
	200	$5,88 \pm 0,50^{**}$	35
	400	$5,60 \pm 0,60^{**}$	38
Ácido Acetilsalicílico			
	250	$5,47 \pm 0,40^{**}$	39

Os valores representam a média \pm E.P.M. da concentração de azul de Evans (μg) no lavado peritoneal 20 min após a administração intraperitoneal de ácido acético 0,6 % (10 mL/Kg). Veículo (controle), cineol e ácido acetilsalicílico foram administrados 45 min antes da injeção de ácido acético 0,6 %. Foram utilizados grupos de 6 animais cada. ^{**} $p < 0,01$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

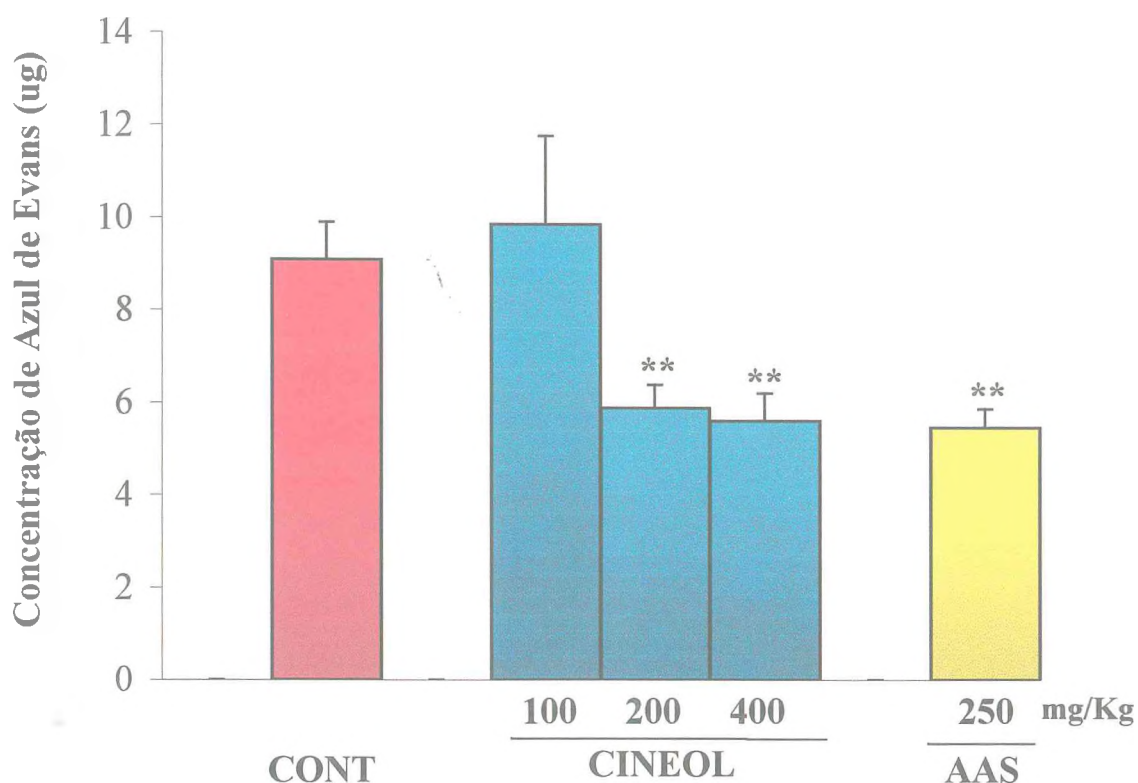


FIGURA 19 - Efeito da administração oral de cineol sobre o aumento da permeabilidade capilar induzida por ácido acético em camundongos. Cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.), ácido acetilsalicílico (250 mg/Kg, v.o., AAS) e veículo (controle, CONT) foram administrados 45 min antes da injeção intraperitoneal de ácido acético 0,6 % (10 mL/Kg). Os valores representam a média \pm E.P.M. da concentração de Azul de Evans no lavado peritoneal. Foram utilizados 6 animais por grupo. ** $p < 0,01$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.5. ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO CINEOL

5.5.1. Efeito do Cineol na Nocicepção induzida por Ácido acético em Camundongos

Cineol nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg, administrado por via oral, reduziu de forma significativa ($p < 0,01$) o número médio de contorções abdominais para $31,50 \pm 5,99$; $28,62 \pm 3,44$ e $36,50 \pm 6,21$ contorções/20 min respectivamente, em relação ao grupo controle ($60,62 \pm 8,37$ contorções/20 min), correspondendo a uma inibição de 48, 53 e 40 % respectivamente, porém esta inibição não foi dose dependente. O ácido acetilsalicílico (250 mg/Kg, v.o.), droga padrão de referência, promoveu uma redução de 69 % no número de contorções abdominais. (Tabela 5 e Figura 20)

5.5.2. Efeito do Cineol na Nocicepção induzida por Formalina em Camundongos

Cineol na dose de 400 mg/Kg (v.o.) promoveu uma redução significativa ($p < 0,01$) do tempo de reação, tempo em que o animal permaneceu lambendo a pata na primeira (0-5 min) e segunda (20-25 min) fase do teste. Na primeira fase, o tempo de reação do grupo controle ($68,00 \pm 10,80$ seg) foi reduzido para $14,28 \pm 5,03$ seg correspondendo a uma inibição de 79 %, e na segunda fase o tempo de reação do mesmo ($43,67 \pm 4,91$ seg) foi reduzido para 0 seg, correspondendo a uma inibição de 100 %. A dose de 200 mg/Kg reduziu significativamente ($p < 0,05$) os tempos de reação na primeira e segunda fase do teste, onde o valor do grupo controle ($43,67 \pm 4,91$ seg) foi reduzido para $34,00 \pm 4,08$ e $1,50 \pm 1,31$ seg, respectivamente, correspondendo a uma inibição de 50 e 97 %, respectivamente (Tabela 6 e Figura 21).

Morfina (7,5 mg/Kg, i.p.), um analgésico opióide, exibiu uma potente inibição de 94 % na primeira fase e de 95 % da segunda fase do teste. A

naloxona (1 mg/Kg, s.c.), um antagonista opióide, significativamente ($p < 0,01$) inibiu o efeito da morfina nas duas fases do teste. Contudo, a naloxona (1 mg/Kg, s.c.) não foi capaz de reverter a antinocicepção induzida por cineol (400 mg/Kg, v.o.) observada tanto na primeira fase ($26,76 \pm 6,19$ seg) quanto na segunda fase (0 seg) quando comparado a cineol sozinho ($14,28 \pm 5,03$ seg (1ª Fase) e 0 seg (2ª Fase)) (Tabela 6 e Figura 21).

Teofilina (10 mg/Kg, i.p.), um antagonista da adenosina, mostrou um aumento significativo ($p < 0,05$) de 29 % na primeira fase ($75,66 \pm 5,41$ seg) e de 143 % na segunda fase ($35,00 \pm 11,45$ seg) quando comparado ao controle ($58,80 \pm 8,80$ seg (1ª Fase) e $14,38 \pm 5,93$ seg (2ª Fase)). (Tabela 7 e Figura 22)

Contudo, teofilina (10 mg/Kg, i.p.) reverteu a antinocicepção induzida por cineol (400 mg/Kg, v.o.) apenas na primeira fase do teste ($40,12 \pm 4,54$ seg) quando comparado a cineol sozinho ($12,35 \pm 4,10$ seg). Na segunda fase do teste, teofilina (0 seg) não foi capaz de reverter a antinocicepção de cineol (0 seg).

5.5.3. Efeito do Cineol na Nocicepção induzida pela Placa Quente em Camundongos

Cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.) não foi capaz de prolongar o tempo de reação à placa quente ($51 \pm 0,1$ °C) quando comparado ao grupo controle (Tabela 8 e Figura 23).

Morfina (5 mg/Kg, i.p.), um analgésico opióide, prolongou de forma significativa ($p < 0,01$) o tempo de reação, no tempo de 30 min, de $24,01 \pm 3,53$ seg (controle) para $35,92 \pm 3,35$ seg

A associação de morfina (5 mg/Kg, i.p.) e cineol (400 mg/Kg, v.o.) prolongou de forma significativa ($p < 0,01$) a analgesia da morfina, nos tempos de 60 e 90 min, para valores de $38,14 \pm 3,22$ e $41,96 \pm 1,92$ seg, respectivamente, quando comparado a morfina sozinha ($26,81 \pm 2,30$ seg ($t = 60$ min) e $21,94 \pm 1,75$ seg ($t = 90$ min)) (Tabela 8 e Figura 24)

TABELA 5 - Efeito do cineol e ácido acetilsalicílico no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Nº de Contorções/20 min	% de Inibição
Controle (veículo)	-	60,62 ± 8,37	-
Cineol			
	100	31,50 ± 5,99**	48
	200	28,62 ± 3,44**	53
	400	36,50 ± 6,21**	40
Ácido Acetilsalicílico			
	250	18,59 ± 3,20***	69

Os valores representam a média ± E.P.M. do número de contorções abdominais exibidas pelos animais durante 20 min, começados a contar 10 min após a injeção do ácido acético 0,6 % (0,1 mL/10g). Veículo (controle), cineol e ácido acetilsalicílico foram administrados 45 min antes da injeção intraperitoneal de ácido acético 0,6 %. Foram utilizados grupos de 6 animais cada. ** p < 0,01, *** p < 0,001 comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

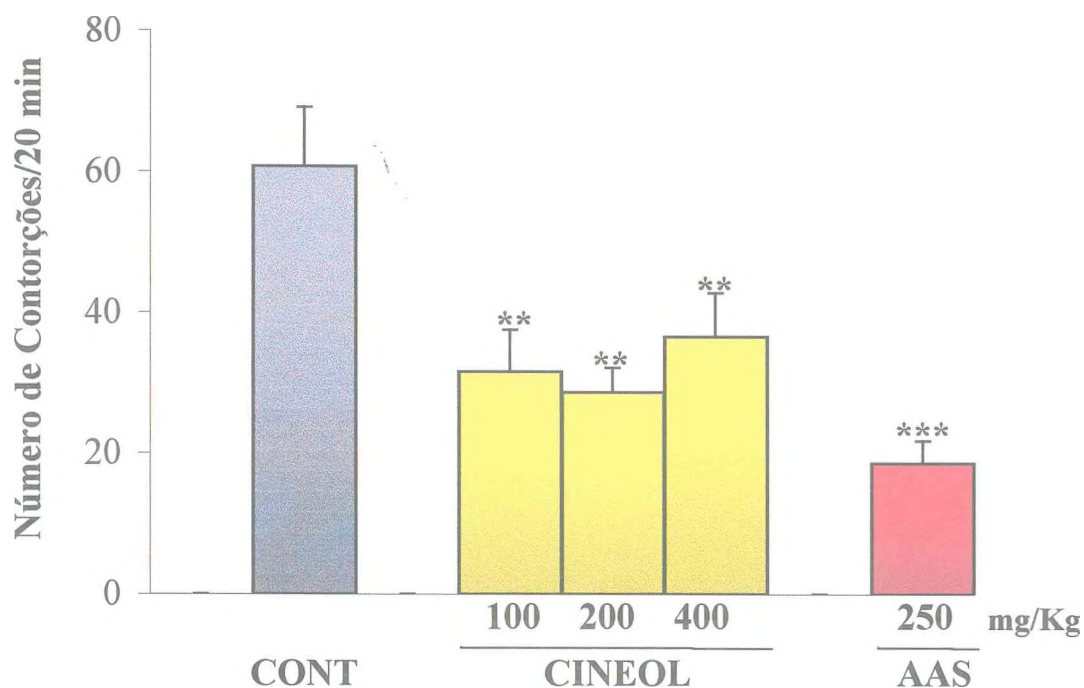


FIGURA 20 - Efeito da administração oral de cineol sobre as contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos. Veículo (10 mL/Kg, controle, CONT), cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.), ácido acetilsalicílico (250 mg/Kg, v.o., AAS) e foram administrados 45 min antes da injeção intraperitoneal de ácido acético 0,6 % (0,1 mL/10 g). Os valores representam a média \pm E.P.M. do número de contorções abdominais durante 20 min, registrados a partir de 10 min após a injeção de ácido acético. Foram utilizados 6 animais por grupo. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

TABELA 6 - Efeito do cineol no teste da formalina em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Tempo (seg)		% de Inibição	
		1ª Fase	2ª Fase	1ª Fase	2ª Fase
Controle (veículo)	-	68,00 ± 10,80	43,67 ± 4,91	-	-
Cineol	100, v.o.	66,86 ± 7,50	21,14 ± 11,09	3	45
	200, v.o.	34,00 ± 4,08 ^a	1,50 ± 1,31 ^a	50	97
	400, v.o.	14,28 ± 5,03 ^a	0 ^a	79	100
Morfina	7,5, v.o.	4,23 ± 3,32 ^a	2,06 ± 2,06 ^a	94	95
Naloxona + Morfina	1,0, s.c. + 7,5, i.p.	67,74 ± 14,65 ^b	50,35 ± 6,76 ^b	-	-
Naloxona + Cineol	1,0, s.c. + 400, v.o.	26,75 ± 6,19 ^a	0 ^a	39	0

Os valores representam a média ± E.P.M., do tempo gasto pelo animal lambendo a pata, registrado no período de 0-5 min (1ª Fase) e 20-25 min (2ª Fase), após a injeção subplantar de formalina 1 % (20 µl/animal). Veículo (controle) e cineol foram administrados 45 min e morfina 30 min, antes da injeção subplantar de formalina. A naloxona foi administrada 15 min antes do tratamento com morfina ou cineol. Foram utilizados grupos de 8 animais cada. ^ap < 0,05 comparado ao controle, ^bp < 0,01 comparado a morfina (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

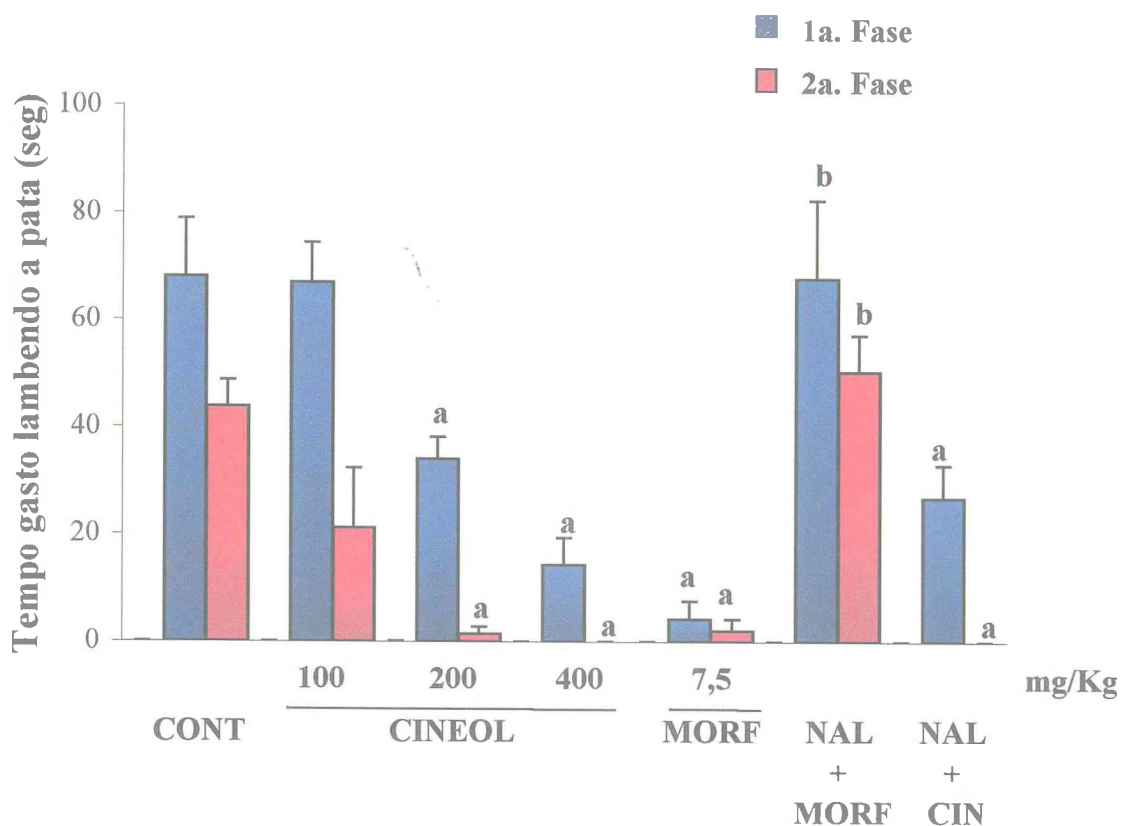


FIGURA 21 - Efeito do cineol no teste da formalina em camundongos. Veículo (10 mL/Kg, controle, CONT) e cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min e morfina (7,5 mg/Kg, i.p., MORF) 30 min antes da injeção subplantar de formalina. Naloxona (1 mg/Kg, s.c., NAL) foi administrada 15 min antes do tratamento com morfina (7,5 mg/Kg, i.p., MORF) ou cineol (400 mg/Kg, v.o., CIN). Os valores representam a média \pm E.P.M. do tempo gasto pelo animal lambendo a pata, registrado no período de 0-5 min (1ª Fase) e 20-25 min (2ª Fase), após a injeção subplantar de formalina 1 % (20 μ L/animal). Foram utilizados 8 animais por grupo. ^a $p < 0,05$ comparado ao controle; ^b $p < 0,01$ comparado a morfina (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

TABELA 7 - Efeito do cineol e teofilina no teste da formalina em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Tempo (seg)		% Inibição(-)/ Aumento (+)	
		1ª Fase	2ª Fase	1ª Fase	2ª Fase
Controle (veículo)	-	58,80 ± 8,80	14,38 ± 5,93	-	-
Cineol	400, v.o.	12,35 ± 4,10 ^a	0 ^a	- 79	- 100
Teofilina	10, i.p.	75,66 ± 5,41 ^a	35,00 ± 11,45 ^a	+ 29	+ 143
Teofilina + Cineol	10, i.p. + 400, v.o.	40,12 ± 4,54 ^{bc}	0 ^{ab}	- 32	- 100

Os valores representam a média ± E.P.M. do tempo gasto pelo animal lambendo a pata, registrado no período de 0-5 min (1ª Fase) e 20-25 min (2ª Fase), após a injeção subplantar de formalina 1 % (20 µL/animal). Veículo (controle) e cineol e foram administrados 45 min antes da injeção de formalina. A teofilina foi administrada 30 min antes da formalina e 15 min antes do tratamento com cineol. Foram utilizados grupos de 8 animais cada. ^ap < 0,05 comparado ao controle, ^bp < 0,05 comparado a teofilina, ^cp < 0,05 comparado a cineol (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

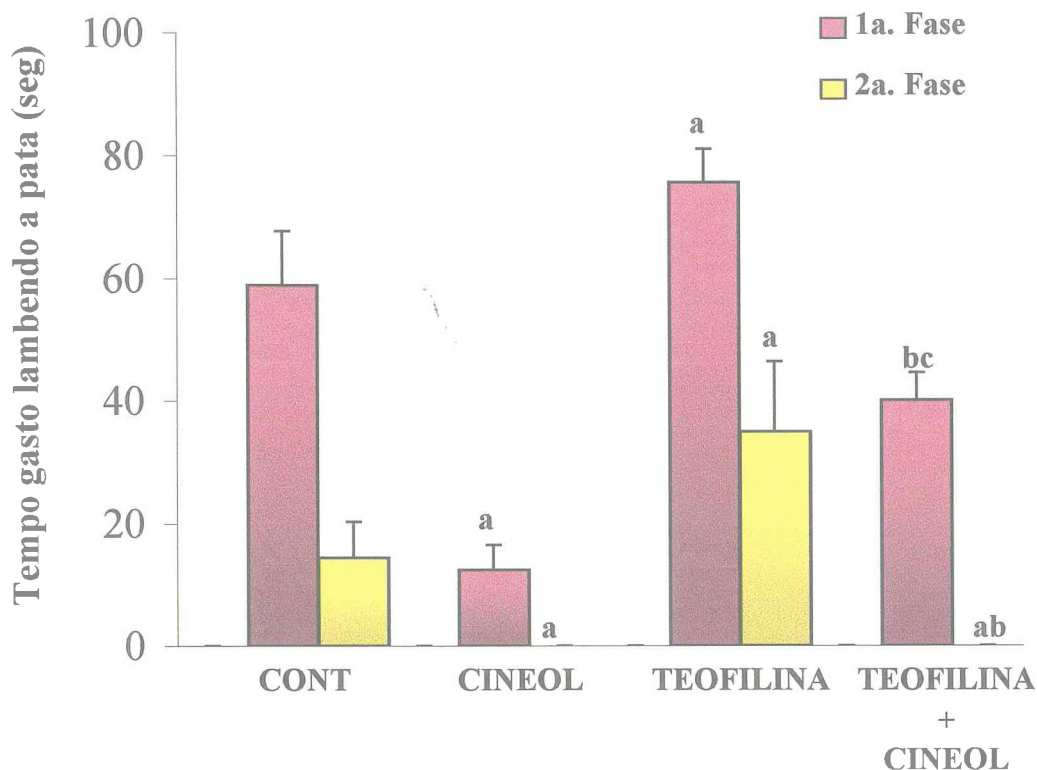


FIGURA 22 - Efeito do cineol e teofilina no teste da formalina em camundongos. Veículo (10 mL/Kg, controle, CONT) e cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min e teofilina (10 mg/Kg, i.p.) 30 min antes da injeção subplantar de formalina. Teofilina (10 mg/Kg, s.c.) foi administrada 15 min antes do tratamento com cineol (400 mg/Kg, v.o.). Os valores representam a média \pm E.P.M. do tempo gasto pelo animal lambendo a pata, registrado no período de 0-5 min (1ª Fase) e 20-25 min (2ª Fase), após a injeção subplantar de formalina 1 % (20 μ L/animal). Foram utilizados 8 animais por grupo. ^a $p < 0,05$ comparado ao controle; ^b $p < 0,05$ comparado a teofilina; ^c $p < 0,05$ comparado ao cineol (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

TABELA 8 - Efeito do cineol e morfina no teste da placa quente em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Tempo de Reação (seg)			
		t = 0	t = 30	t = 60	t = 90
Controle (veículo)	-	18,25 ± 0,80	24,01 ± 3,53	21,43 ± 1,49	25,33 ± 3,24
Cineol					
	100, v.o.	17,71 ± 0,99	25,88 ± 3,57	21,83 ± 1,75	25,13 ± 2,60
	200, v.o.	17,80 ± 0,93	23,72 ± 0,81	24,96 ± 2,41	31,35 ± 1,40
	400, v.o.	18,85 ± 0,68	19,37 ± 1,89	25,12 ± 1,55	26,65 ± 4,09
Morfina	5; i.p.	18,77 ± 1,39	35,92 ± 3,35 ^a	26,81 ± 2,30	21,94 ± 1,75
Cineol + Morfina	400, v.o. + 5, i.p.	20,81 ± 0,96	42,63 ± 1,98 ^a	38,14 ± 3,22 ^{ab}	41,96 ± 1,92 ^{ab}

Os valores representam a média ± E.P.M. do tempo de reação (em segundos), que consiste no tempo decorrido desde a colocação do animal na placa quente (51 ± 0,5 °C) até o momento em que este saltar ou lambe as patas traseiras, registrados antes (t = 0) e 30, 60 e 90 min (t = 30, t = 60, t = 90) após o tratamento com as drogas. Cineol foi administrado 15 min antes da morfina. Foram utilizados grupos de 8 animais cada. ^a p < 0,01 comparado ao controle, ^b p < 0,01 comparado a morfina (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

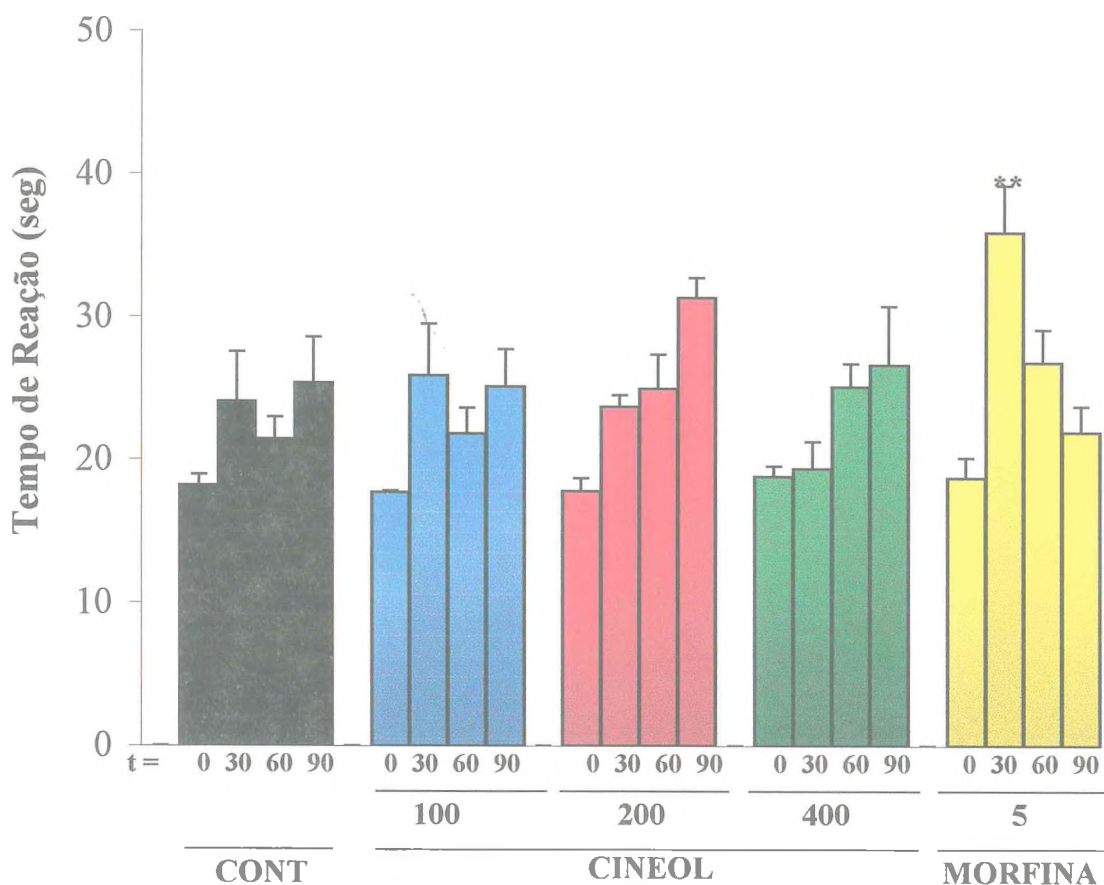


FIGURA 23 - Efeito do cineol e morfina no teste da placa quente em camundongos. Os valores representam a média \pm E.P.M. do tempo de reação (em segundos), que consiste no tempo decorrido desde a colocação do animal na placa quente ($51 \pm 0,5$ °C) até o momento em que este saltar ou lamber as patas traseiras, registrados antes ($t = 0$) e 30, 60 e 90 min ($t = 30$, $t = 60$, $t = 90$) após o tratamento com as drogas. Veículo (10 mL/Kg, controle, CONT) e cineol (100, 200 e 400 mg/Kg) foram administrados por via oral, enquanto morfina (5 mg/Kg) por via intraperitoneal. Foram utilizados grupos de 8 animais cada. ** $p < 0,01$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

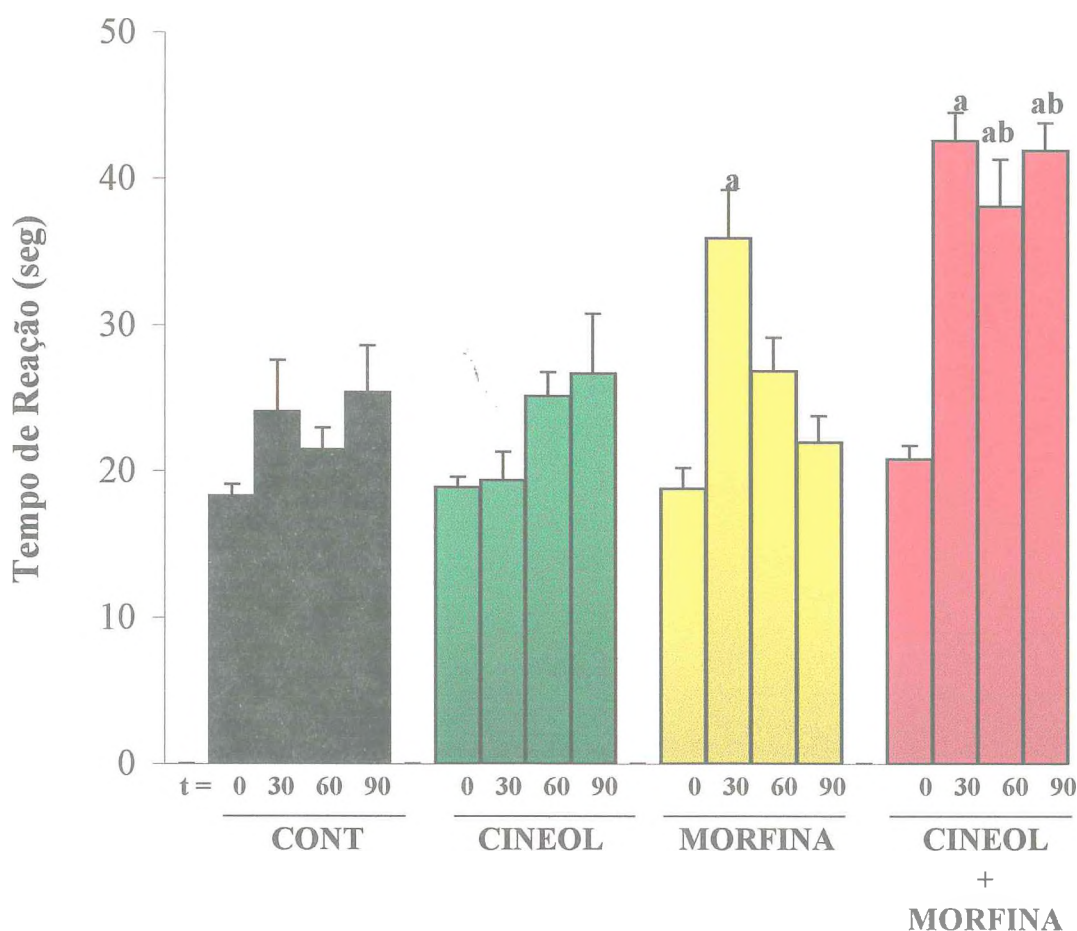


FIGURA 24 - Efeito do cineol sobre a antinociceção da morfina no teste da placa quente em camundongos. Os valores representam a média \pm E.P.M. do tempo de reação (em segundos), que consiste no tempo decorrido desde a colocação do animal na placa quente ($51 \pm 0,5$ °C) até o momento em que este saltar ou lambe as patas traseiras, registrados antes ($t = 0$) e 30, 60 e 90 min ($t = 30$, $t = 60$, $t = 90$) após o tratamento com as drogas. Veículo (10 mL/Kg, controle, CONT) e cineol (400 mg/Kg) foram administrados por via oral, enquanto morfina (5 mg/Kg) por via intraperitoneal. Cineol (400 mg/Kg, v.o.) foi administrado 15 min antes da morfina (5 mg/Kg, i.p.). Foram utilizados grupos de 8 animais cada. ^a $p < 0,01$ comparado ao controle (veículo) e ^b $p < 0,01$ comparado a morfina (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.5.4. Efeito do Cineol no Tempo de Sono induzido por Pentobarbital em Camundongos

A administração oral de cineol, nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg, prolongou o tempo de sono de $17,33 \pm 1,06$ min (controle) para $35,85 \pm 12,34$; $60,57 \pm 11,78$ e $116,93 \pm 18,15$ min, respectivamente, mostrando uma potencialização significativa ($p < 0,05$) nas doses de 200 e 400 mg/Kg. Clorpromazina (10 mg/Kg, i.m.) aumentou significativamente ($p < 0,001$) o tempo de sono para $171,17 \pm 17,58$ min quando comparado ao controle (Tabela 9 e Figura 25).

5.5.5. Efeito do Cineol na Atividade Motora Espontânea em Camundongos

A **Tabela 10** mostra o efeito de cineol sobre a frequência de locomoção, em camundongos, no campo aberto.

Em relação aos animais controle ($41,33 \pm 2,50$), uma significativa diminuição ($p < 0,05$) na frequência de locomoção foi observada nos animais que receberam 400 mg/Kg, v.o., de cineol ($21,00 \pm 3,63$).

5.5.6. Efeito de Cineol na Temperatura Corporal de Ratos

A **Tabela 11** mostra que os animais tratados oralmente com veículo (10 mL/Kg) ou cineol, nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg, não apresentaram alteração significativa da temperatura corpórea após 1, 2 ou 3 h do tratamento, quando comparado ao controle (0 h).

TABELA 9 - Efeito de cineol e clorpromazina no tempo de sono induzido por pentobarbital em camundongos

Grupo	Dose (mg/Kg)	Tempo de sono (min)
Controle (veículo)	-	17,33 ± 1,06
Cineol		
	100, v.o.	35,85 ± 12,34
	200, v.o.	60,57 ± 11,78*
	400, v.o.	116,93 ± 18,15**
Clorpromazina		
	10, i.m.	171,17 ± 17,58***

Os valores representam a média ± E.P.M. do tempo gasto pelo animal dormindo, que foi registrado (min) desde o momento do início do sono até o retorno à situação de alerta. Veículo (controle) e cineol foram administrados 45 min e clorpromazina 30 min antes da injeção de pentobarbital (40 mg/Kg, i.p.). Foram utilizados grupos de 6 animais cada. * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

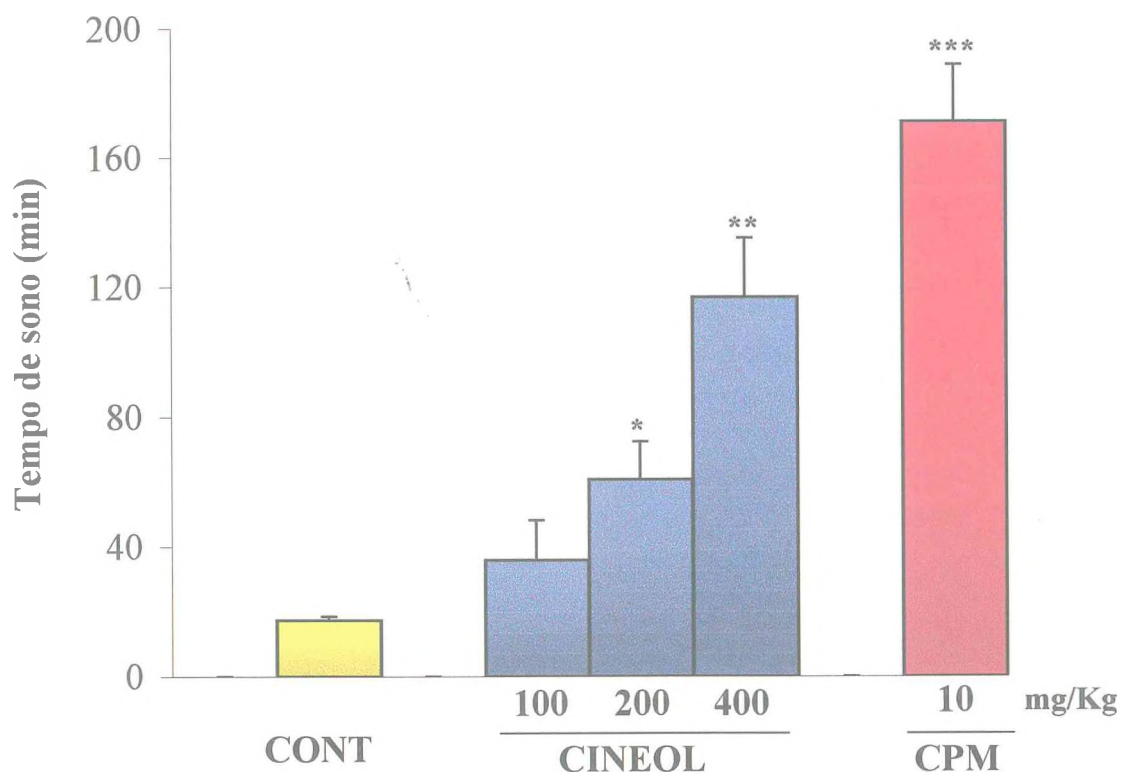


FIGURA 25 - Efeito do cineol e clorpromazina sobre o tempo de sono induzido por pentobarbital em camundongos. Veículo (controle, CONT) e cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min e clorpromazina (10 mg/Kg, v.o., CPM) foi administrada 30 min antes da injeção intraperitoneal de pentobarbital (40 mg/Kg). Foram utilizados grupos de 6 animais cada. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

TABELA 10 - Efeito do cineol na frequência de locomoção em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Frequência de Locomoção/4 min
Controle (veículo)	-	41,33 ± 2,50
Cineol	400 mg/Kg	21,00 ± 3,63*

Os animais (6 por grupo) foram tratados com veículo (10 mL/Kg, v.o., controle) ou cineol (400 mg/Kg, v.o.) 60 min antes do início do teste. Os dados representam a média ± E.P.M. da frequência de locomoção, que consiste do ato do animal penetrar com as quatro patas em uma das divisões da arena do campo aberto, durante um período de 4 min. * $p < 0,05$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

TABELA 11 - Efeito do cineol sobre a temperatura corporal de ratos.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Temperatura Corpórea (°C)			
		0 h	1 h	2 h	3 h
Controle (veículo)	-	37,31 ± 0,16	37,17 ± 0,09	37,67 ± 0,08	37,58 ± 0,10
Cineol					
	100	37,59 ± 0,14	37,66 ± 0,08	37,89 ± 0,13	37,86 ± 0,06
	200	38,37 ± 0,14	38,73 ± 0,09	38,66 ± 0,09	38,62 ± 0,08
	400	38,27 ± 0,18	38,82 ± 0,11	38,62 ± 0,12	38,40 ± 0,13

Os valores representam a média ± E.P.M. da temperatura corpórea (°C), que foi registrada através de um termômetro digital inserido no reto (3 cm), nos tempos 0 h (antes do tratamento) e 1, 2 e 3 h (após o tratamento com as drogas). Veículo e Cineol foram administrados logo após a medida da temperatura no tempo 0 h. Foram utilizados 8 animais por grupo.

5.6. ATIVIDADE ANTICONVULSIVANTE DO CINEOL

5.6.1. Efeito do Cineol sobre as Convulsões induzidas por Pentilenotetrazol em Camundongos

A atividade anticonvulsivante de cineol frente às convulsões produzidas por pentilenotetrazol, em camundongos, encontra-se representada na **Tabela 12** e **Figura 26**.

O tratamento oral dos animais com cineol (200 e 400 mg/Kg, v.o.) prolongou o tempo de latência para a primeira convulsão generalizada para $168,83 \pm 39,51$ e $134,00 \pm 14,00$ seg, respectivamente, em relação ao controle ($118,17 \pm 15,38$ seg), porém este aumento não significativo. A dose de 400 mg/Kg de cineol ofereceu completa proteção contra a morte.

O pré-tratamento dos animais com cafeína (50 mg/Kg, i.p.), ácido L-glutâmico (1000 mg/Kg, i.p.) ou 7-nitroindazol (50 mg/Kg, i.p.) não reverteu o efeito protetor de cineol (400 mg/Kg, v.o.) contra a letalidade induzida por pentilenotetrazol.

5.6.2. Efeito do Cineol sobre as Convulsões induzidas por Estricnina em Camundongos

Cineol na dose 400 mg/Kg, administrado por via oral, produziu uma latência para a 1ª convulsão generalizada de $168,67 \pm 17,77$ seg O respectivo tempo para o grupo controle foi de $159,17 \pm 13,19$ seg O grupo controle mostrou percentagem de morte de 83 %, enquanto cineol de 100 %, não demonstrando proteção contra a morte dos animais (**Tabela 13**).

5.6.3. Efeito do Cineol sobre as Convulsões induzidas por Pilocarpina em Camundongos

Cineol na dose de 400 mg/Kg, administrado por via oral, produziu uma latência para a 1^a convulsão generalizada de $501,25 \pm 45,63$ seg. O respectivo tempo para o grupo controle foi de $556,67 \pm 23,18$ seg. O grupo controle mostrou percentagem de morte de 83 %, enquanto cineol de 100 %, não demonstrando proteção contra a morte dos animais (**Tabela 14**).

5.6.4. Efeito do Cineol sobre as Convulsões induzidas por Picrotoxina em Camundongos

Cineol na dose de 400 mg/Kg, administrado por via oral, produziu uma latência para a 1^a convulsão generalizada de $365,16 \pm 24,24$ seg. O respectivo tempo para o grupo controle foi de $669,83 \pm 53,23$ seg. O grupo controle e cineol mostraram percentagem de morte de 100 %, não demonstrando proteção pelo cineol contra a morte dos animais (**Tabela 15**).

5.6.5. Efeito de Cineol no Teste de Imobilização da Cauda em Camundongos

Cineol nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg, administrado por via oral, prolongou o tempo de imobilização para $128,83 \pm 15,21$; $177,17 \pm 10,31$ e $186,67 \pm 14,42$ seg, respectivamente, quando comparado ao controle ($117,00 \pm 8,39$ seg). O efeito de cineol foi significativo ($p < 0,01$) para as doses de 200 e 400 mg/Kg (**Tabela 16 e Figura 27**).

5.6.6 . Efeito do Cineol no Teste de “Rotarod” em Camundongos

Cineol nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg, administrado por via oral, mostrou tempo de permanência no aparelho de $60,83 \pm 17,86$; $61,83 \pm 19,48$ e $61,67 \pm 13,45$ seg, respectivamente. O tempo para o grupo controle foi de $59,00 \pm 19,84$ seg. Cineol não prolongou de forma significativa o tempo de permanência dos animais no aparelho de “rotarod”.

TABELA 12 - Efeito de cineol nas convulsões induzidas por pentilenotetrazol em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Latência 1 ^a convulsão (seg)	Nº de animais c/ convulsão	Letalidade	% Proteção da morte
Controle (Veículo)	-	118,17 ± 15,38	12/12	12/12	0
Cineol	100, v.o.	100,00 ± 6,30	06/06	06/06	0
	200, v.o.	168,83 ± 39,51	05/06	05/06	17
	400, v.o.	134,00 ± 14,00	02/06	0/06*	100
Cafeína + Cineol	50, i.p. + 400, v.o.	225,50 ± 70,48	04/06	0/06*	100
Ác. L-glutâmico + Cineol	1000, i.p. + 400, v.o.	321,29 ± 88,61**	06/06	05/06	17
7-nitroindazol + Cineol	50, i.p. + 400, v.o.	249,16 ± 28,00	06/06	06/06	0

Os valores representam a média ± E.P.M. da latência (em segundos) para a 1^a convulsão generalizada. Cineol e veículo (controle) foram administrados 45 min antes da injeção de pentilenotetrazol (80 mg/Kg, i.p.). Cafeína, ácido L-glutâmico e 7-nitroindazol foram administrados 15 min antes do tratamento com cineol. Foram utilizados grupos de 6 animais cada. ** p < 0,01 comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul), * p < 0,05 comparado ao controle (Teste do Qui-quadrado).

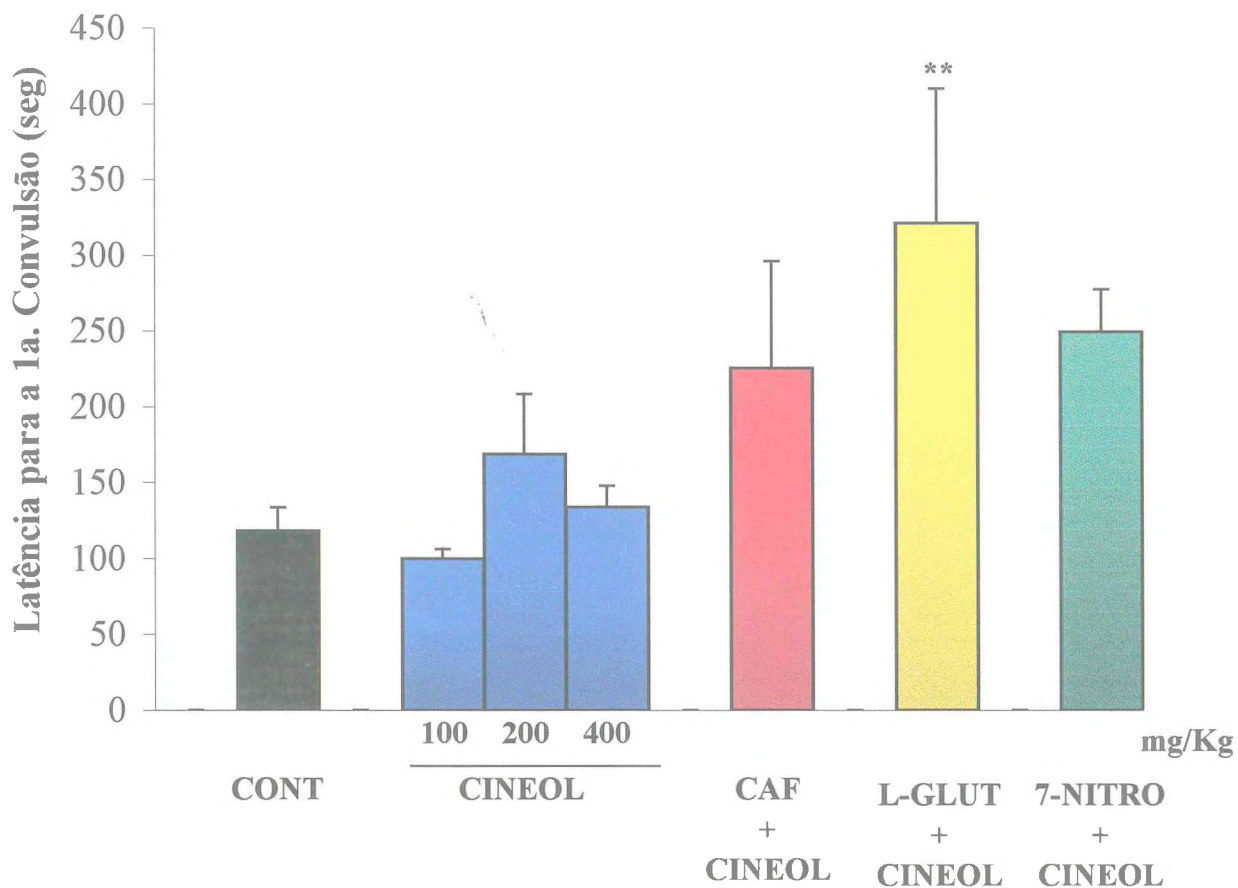


FIGURA 26 - Efeito do cineol nas convulsões induzidas por pentilenotetrazol em camundongos. Os valores representam a média \pm E.P.M. da latência, em segundos, para a 1ª convulsão generalizada. Cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.) e veículo (controle, CONT) foram administrados 45 min antes da injeção de pentilenotetrazol (80 mg/Kg, i.p.). Os animais receberam intraperitonealmente cafeína (50 mg/Kg, CAF), ácido L-glutâmico (1000 mg/Kg, L-GLUT) e 7-nitroindazol (50 mg/Kg, 7-NITRO) 15 min antes do tratamento com cineol (400 mg/Kg, v.o.). Foram utilizados grupos de 6 animais cada. ** $p < 0,01$ comparado ao controle veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

TABELA 13 - Efeito do cineol nas convulsões induzidas por estriçnina em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Latência 1ª convulsão (seg)	Letalidade	% de morte	% Proteção da morte
Controle (Veículo)	-	159,17 ± 13,19	05/06	83	17
Cineol	400, v.o.	168,67 ± 17,77	06/06	100	0

Os valores representam a média ± E.P.M. da latência (em segundos) para a 1ª convulsão generalizada. Cineol e veículo (controle) foram administrados 45 min antes da injeção de estriçnina (2 mg/Kg, i.p.). Foram utilizados grupos de 6 animais cada.

TABELA 14 - Efeito do cineol nas convulsões induzidas por pilocarpina em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Latência 1ª convulsão (seg)	Letalidade	% de morte	% Proteção da morte
Controle (Veículo)	-	556,67 ± 23,18	05/06	83	17
Cineol	400, v.o.	501,25 ± 45,63	06/06	100	0

Os valores representam a média ± E.P.M. da latência (em segundos) para a 1ª convulsão generalizada. Cineol e veículo (controle) foram administrados 45 min antes da injeção de pilocarpina (400 mg/Kg, i.p.). Foram utilizados grupos de 6 animais cada.

TABELA 15 - Efeito do cineol nas convulsões induzidas por picrotoxina em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Latência 1^a convulsão (seg)	Letalidade	% de morte	% Proteção da morte
Controle (Veículo)	-	669,83 ± 53,23	06/06	100	0
Cineol	400, v.o.	365,16 ± 24,24	06/06	100	0

Os valores representam a média ± E.P.M. da latência (em segundos) para a 1^a convulsão generalizada. Cineol e veículo (controle) foram administrados 45 min antes da injeção de picrotoxina (6 mg/Kg, i.p.). Foram utilizados grupos de 6 animais cada.

TABELA 16 - Efeito do cineol no tempo de imobilização no teste de suspensão da cauda em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Tempo de Imobilização (seg)/5 min
Controle (Veículo)	-	117,00 ± 8,39
Cineol	100	128,83 ± 15,21
	200	177,17 ± 10,31 ^{**}
	400	186,67 ± 14,42 ^{**}

Os valores representam a média ± E.P.M. do tempo de imobilização (em segundos). Cineol e veículo (controle) foram administrados 45 min antes do início do experimento. Foram utilizados grupos de 6 animais cada. ^{**} p < 0,01 comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

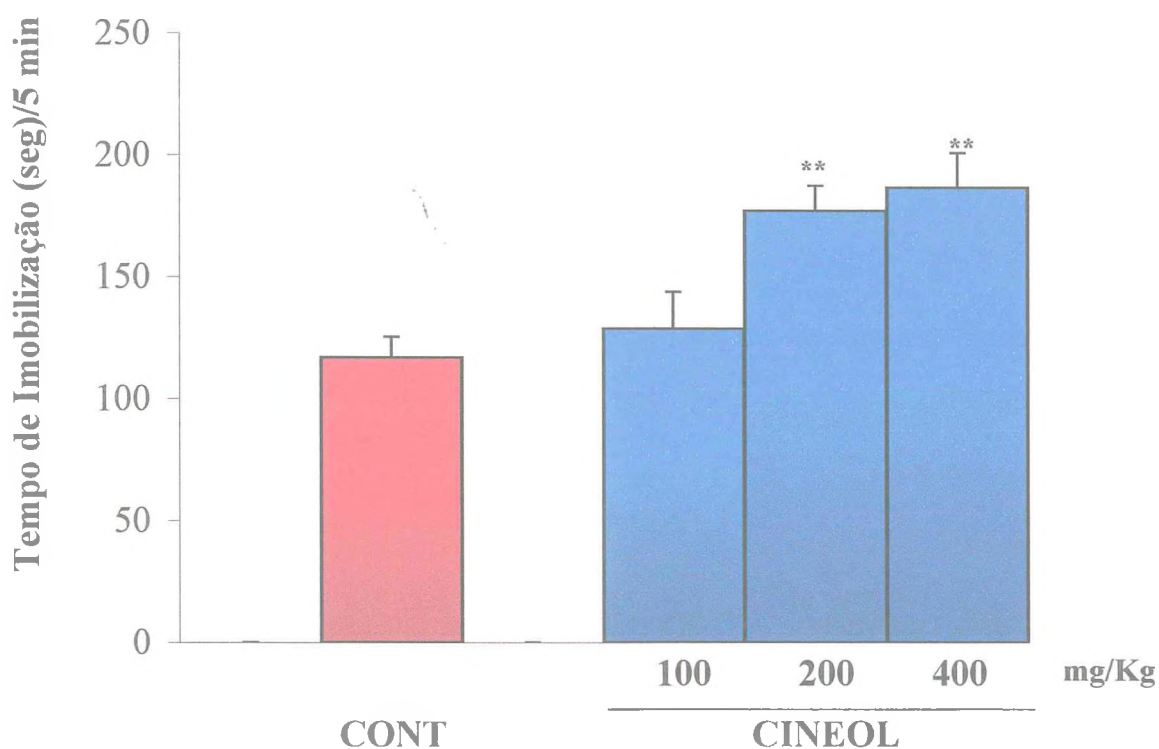


FIGURA 27 - Efeito do cineol no tempo de imobilização no teste de suspensão da cauda em camundongos. Os valores representam a média \pm E.P.M. do tempo de imobilização, em segundos, durante 5 minutos de observação. Veículo (controle, CONT) e cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.) e veículo (controle, CONT) foram administrados 45 min antes do início do experimento. Foram utilizados grupos de 6 animais cada. ** $p < 0,01$ comparado ao controle veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.7. ATIVIDADE ANTIÚLCERA DO CINEOL

5.7.1. Efeito do Cineol sobre a Lesão Gástrica induzida por Etanol em Ratos

Os resultados referentes ao efeito do tratamento com cineol e cimetidina sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto, em ratos, podem ser visualizados na **Tabela 17** e **Figura 28**.

A análise macroscópica dos estômagos mostra intensa área de hemorragia no grupo que recebeu veículo (**Figura 29 A**) e a proteção gástrica, com ausência de hemorragia, no grupo que recebeu cineol 400 mg/Kg (**Figura 29 B**).

Cineol (50, 100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.) reduziu de forma significativa ($p < 0,01$) e dose dependente o percentual de área ulcerada ($3,80 \pm 0,65$; $1,72 \pm 0,65$; $1,33 \pm 0,82$ e $0,65 \pm 3,36$ %, respectivamente) quando comparado ao controle ($16,05 \pm 3,36$ %), correspondendo a uma inibição de 76,89, 92 e 96 %, respectivamente.

A cimetidina (100 mg/Kg, v.o.) não foi capaz de inibir de forma significativa o percentual de área ulcerada ($14,15 \pm 4,55$ %) induzido pela administração oral de etanol absoluto, com uma inibição de apenas 12 %, quando comparado ao controle ($16,05 \pm 3,36$ %).

O pré-tratamento dos animais com 8-fenilteofilina (8-PT, 8 mg/Kg, i.p.) e NECA (0,1 mg/Kg, i.p.) não alterou a resposta ulcerogênica do etanol, cujo percentual de área ulcerada foi de $12,86 \pm 3,71$ e $18,30 \pm 3,11$ %, quando comparado ao controle ($16,05 \pm 3,36$ %). CPA (1 mg/Kg, i.p.) potencializou, de forma significativa ($p < 0,001$), a ação ulcerogênica do etanol. O pré-tratamento dos animais com 8-fenilteofilina (8-PT, 8 mg/Kg, i.p.) não alterou a resposta antiulcerogênica de cineol (400 mg/Kg, v.o.), cujo percentual de área ulcerada foi

de $1,54 \pm 1,28$ %, quando comparado a cineol (400 mg/Kg, v.o.) sozinho que foi de $0,65 \pm 0,18$ % (**Tabela 17 e Figura 30**).

O pré-tratamento dos animais com L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) não alterou a resposta ulcerogênica do etanol, cujo percentual de área ulcerada foi de $16,94 \pm 1,24$ %, quando comparado ao controle ($16,05 \pm 3,36$ %). O pré-tratamento dos animais com L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) não alterou a resposta antiulcerogênica de cineol (400 mg/Kg, v.o.), cujo percentual de área ulcerada foi de $0,51 \pm 0,33$ %, quando comparado a cineol (400 mg/Kg, v.o.) sozinho, que foi de $0,65 \pm 0,18$ % (**Tabela 17 e Figura 30**).

5.7.2. Efeito do Cineol sobre a Lesão Gástrica induzida por Indometacina em Ratos

A **Tabela 18 e Figura 31** mostram os resultados do efeito do tratamento com cineol e cimetidina nas lesões gástricas induzidas por indometacina.

A análise macroscópica dos estômagos mostra as úlceras no grupo que recebeu veículo (**Figura 32 A**) e a proteção gástrica, com ausência de úlceras, no grupo que recebeu cineol 400 mg/Kg (**Figura 32 B**).

A indometacina (30 mg/Kg, v.o.) produziu lesões gástricas com uma média de escore de $37,20 \pm 3,37$. As lesões gástricas foram reduzidas pelo cineol na dose de 400 mg/Kg, v.o., o que promoveu uma inibição de 54 % ($17,00 \pm 4,61$) quando comparado ao controle. Cineol (100 e 200 mg/Kg, v.o.) e cimetidina (100 mg/Kg, v.o.) não inibiram, de forma significativa, as lesões induzidas por indometacina ($37,20 \pm 3,37$) e apresentaram uma média de escores de $27,00 \pm 2,67$; $25,00 \pm 2,70$ e $23,83 \pm 1,56$ respectivamente, promovendo inibições de 27, 32 e 36 %, respectivamente.

TABELA 17 - Efeito do cineol nas lesões gástricas induzidas por etanol em ratos.

Tratamento	Dose (mg/Kg)	% de Área Ulcerada	
Controle (veículo)	-	16,05 ± 3,36	-
Cineol	25, v.o.	13,73 ± 0,65	(14 %)
	50, v.o.	3,80 ± 0,65 **	(76 %)
	100, v.o.	1,72 ± 0,65 **	(89 %)
	200, v.o.	1,33 ± 0,82 **	(92 %)
	400, v.o.	0,65 ± 3,36 ***	(96 %)
Cimetidina	100, v.o.	14,15 ± 4,55	(12 %)
CPA	1, i.p.	70,75 ± 13,00 ***	(-)
NECA	0,1; i.p.	18,30 ± 3,11	(-)
8-Fenilteofilina	8, i.p.	12,86 ± 3,71	(20 %)
8-Fenilteofilina +	8, i.p. +	1,54 ± 1,28	(90 %)
Cineol	50, v.o.		
L-NAME	20, i.p.	16,94 ± 1,24	(-)
L-NAME +	20, i.p. +	0,51 ± 0,33 ***	(97 %)
Cineol	400, v.o.		

Os valores representam a média ± E.P.M. do percentual (%) de área ulcerada. Veículo (controle), cineol e cimetidina foram administrados, por via oral, 45 min antes da administração de etanol absoluto (1 mL/animal). 8-fenilteofilina foi administrada, por via intraperitoneal, 15 min antes da administração de cineol (400 mg/Kg, v.o.). Os animais foram sacrificados 30 min após a administração do etanol. Os valores entre parênteses representam o percentual de inibição da lesão gástrica em relação ao controle. Foram utilizados grupos de 6 animais cada. *** p < 0,001; ** p < 0,01 comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

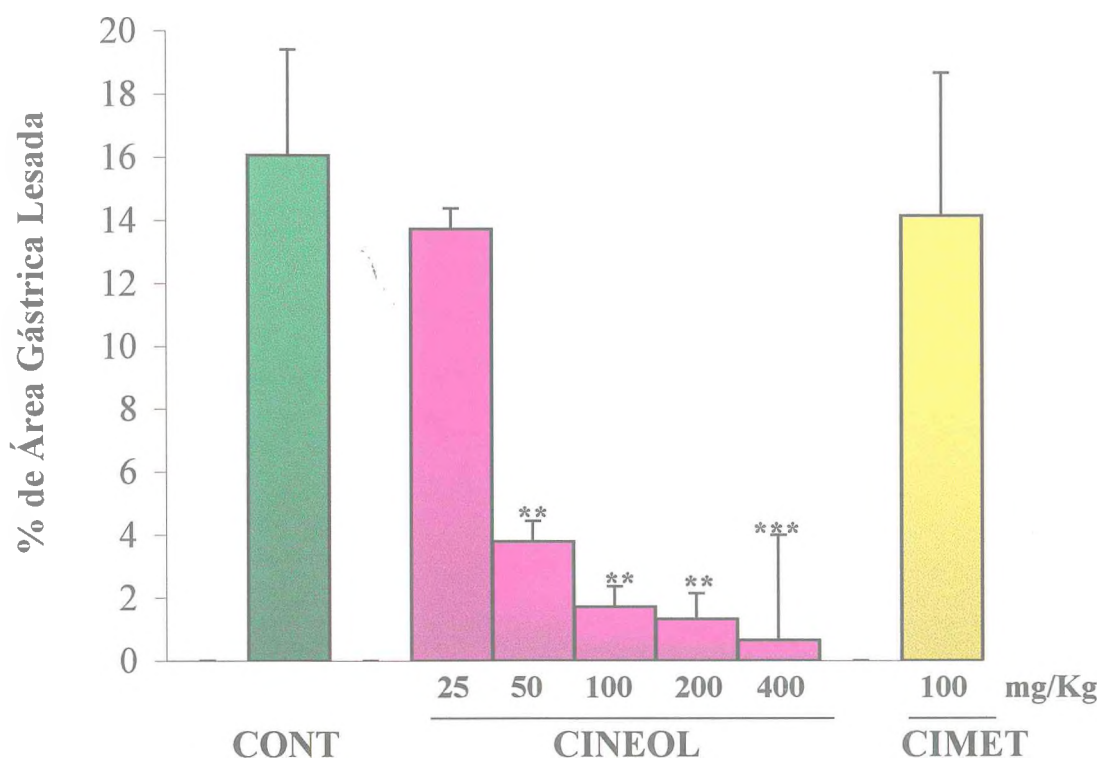


FIGURA 28 - Efeito do cineol e cimetidina nas lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em ratos. Os valores representam a média \pm E.P.M. do percentual de área gástrica lesada. Veículo (10 mL/Kg, v.o., controle, CONT), cineol (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.) e cimetidina (100 mg/Kg, v.o., CIMET) foram administrados 45 min antes do tratamento com etanol absoluto (1 mL/animal). Foram utilizados 6 animais por grupo. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

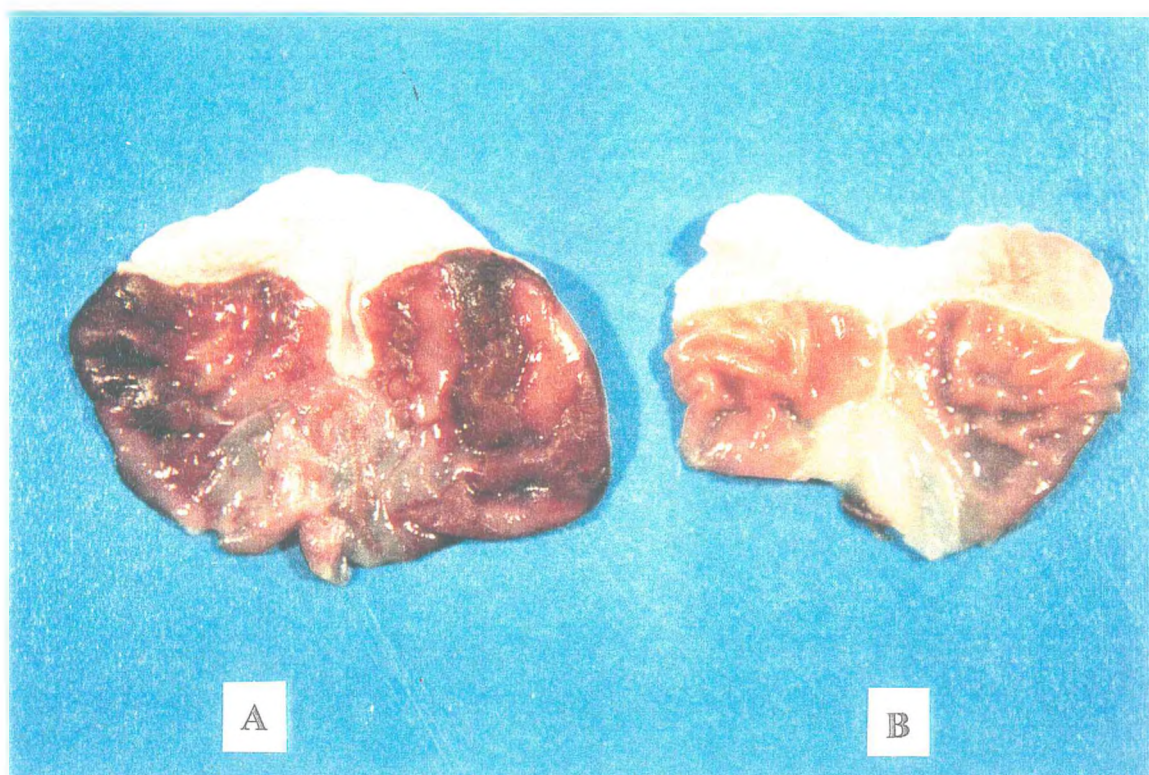


FIGURA 29 - Aspecto macroscópico de estômagos tratados com etanol absoluto. (A) Estômago tratado com veículo. (B) Estômago tratado com cineol (400 mg/Kg).

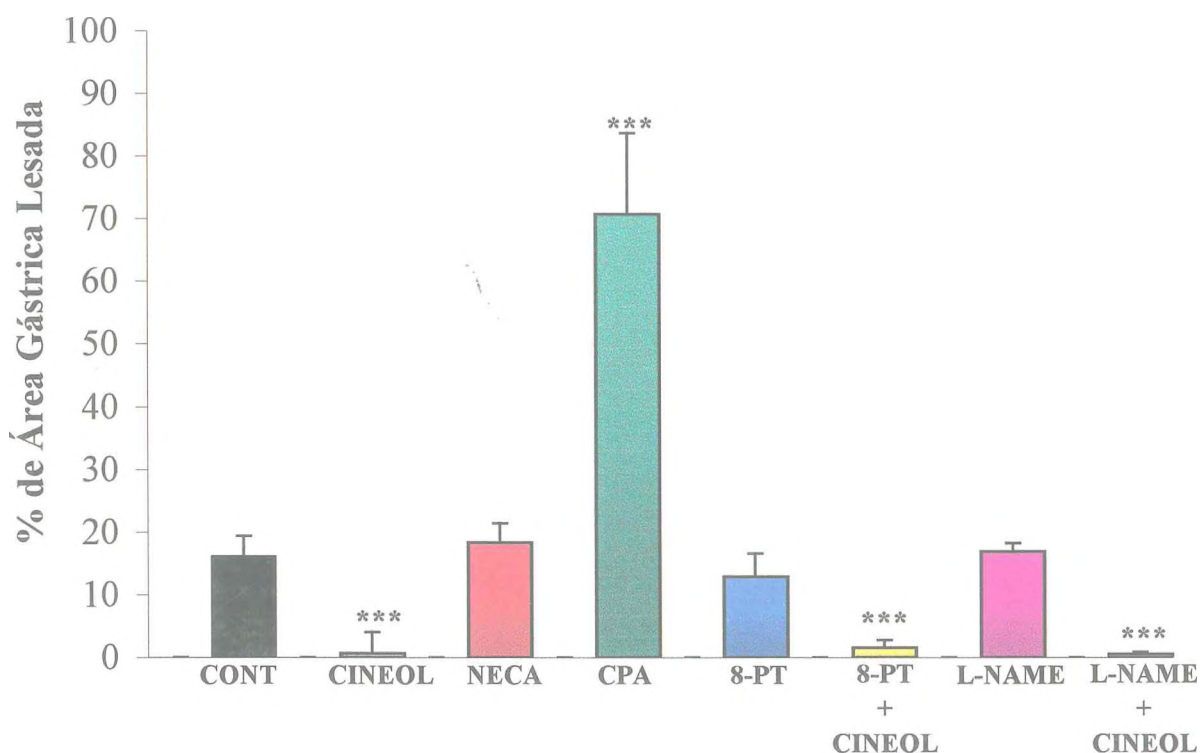


FIGURA 30 - Efeito de drogas modulatórias da adenosina e óxido nítrico nas lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em ratos. Os valores representam a média \pm E.P.M. do percentual de área gástrica ulcerada. Veículo (10 mL/Kg, v.o., controle, CONT) e cineol (400 mg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min antes do tratamento com etanol absoluto (1 mL/animal). NECA (0,1 mg/Kg, i.p.), CPA (1 mg/Kg, i.p.), 8-Fenilteofilina (8-PT, 8 mg/Kg, i.p.) e L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) foram administrados 30 min antes do etanol. 8-Fenilteofilina (8-PT, 8 mg/Kg, i.p.) e L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) foram administrados 15 min antes do tratamento com cineol (400 mg/Kg, v.o.). Foram utilizados 6 animais por grupo. *** $p < 0,001$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

TABELA 18 - Efeito do cineol e cimetidina nas lesões gástricas induzidas por indometacina em ratos.

Tratamento	Dose (mg/Kg)	Escore
Controle (veículo)	-	37,20 ± 3,37
Cineol	100, v.o.	25,00 ± 2,70 (32 %)
	200, v.o.	27,00 ± 2,67 (27 %)
	400, v.o.	17,00 ± 4,61 ** (54 %)
Cimetidina	100, v.o.	23,83 ± 1,56 (36 %)

Os valores representam a média ± E.P.M. da variação de escores. Veículo (controle), cineol e cimetidina foram administrados 45 min antes da administração de indometacina (30 mg/Kg, v.o.). Os animais foram sacrificados 8 h após a administração da indometacina. Os valores entre parênteses representam o percentual de inibição da lesão gástrica em relação ao controle. Foram utilizados grupos de 6 animais cada. ** p < 0,01 comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

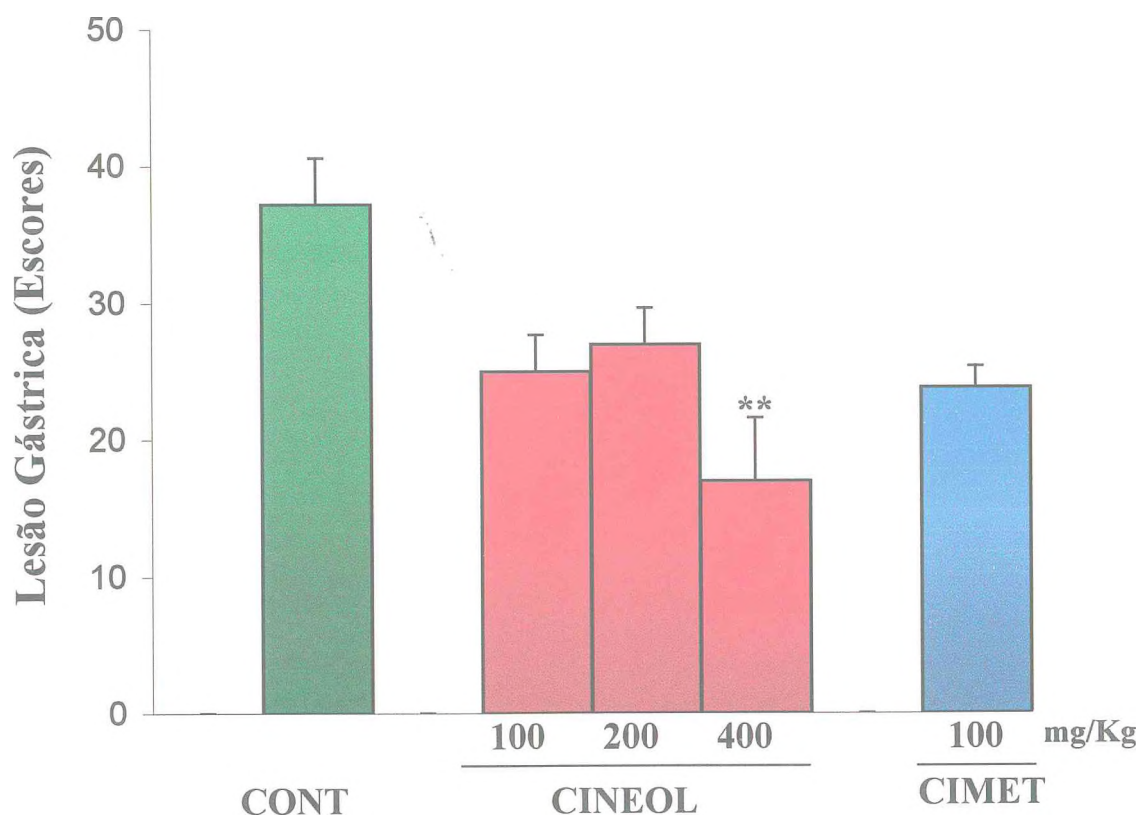


FIGURA 31 - Efeito do cineol e cimetidina nas lesões gástricas induzidas por indometacina em ratos. Os valores representam a média \pm E.P.M. da variação de escores. Veículo (10 mL/Kg, v.o., controle, CONT), cineol (100, 200 e 400 mg/Kg, v.o.) e cimetidina (100 mg/Kg, v.o., CIMET) foram administrados 45 min antes do tratamento com indometacina (30 mg/Kg, v.o.). Foram utilizados 6 animais por grupo. ** $p < 0,01$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

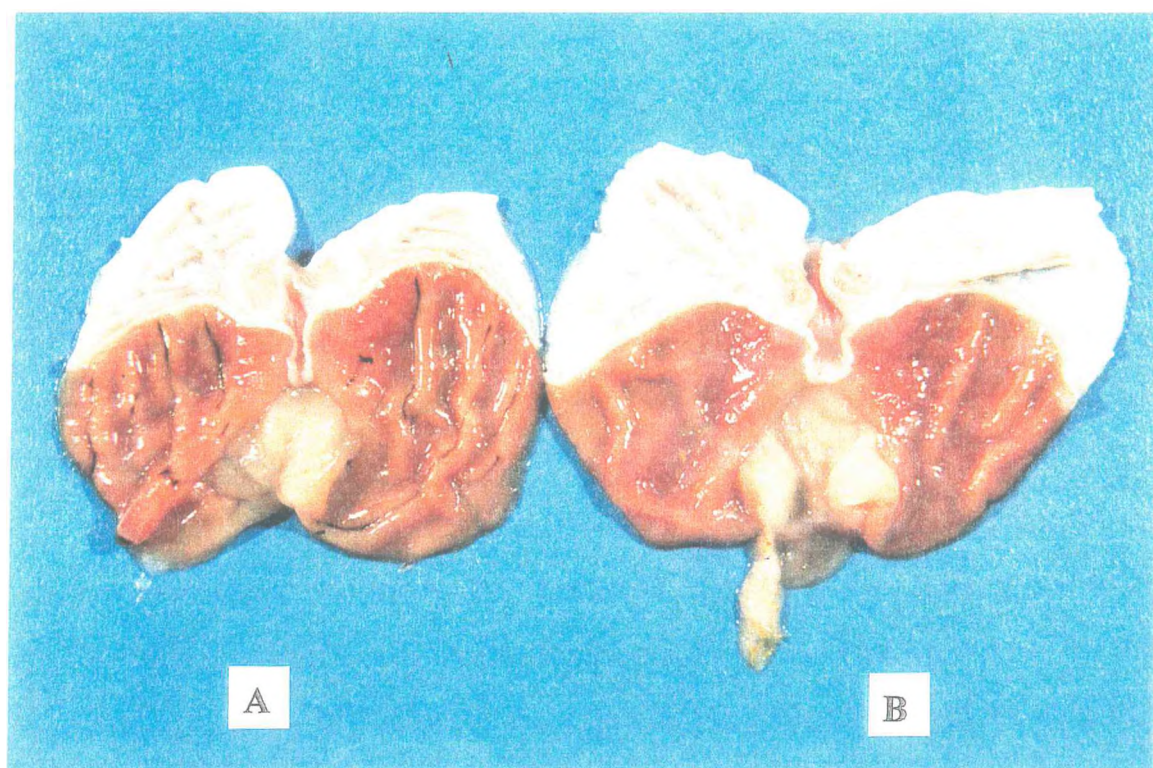


FIGURA 32 - Aspecto macroscópico de estômagos tratados com indometacina. (A) Estômago tratado com veículo. (B) Estômago tratado com cineol (400 mg/Kg).

5.7.3. Efeito do Cineol sobre o Muco Gástrico em Ratos

Nos animais controle, a média da concentração de Azul de Alcian (μg) por grama de tecido glandular (muco gástrico) foi de $38,60 \pm 2,19$. A administração oral de cineol 50 mg/Kg aumentou, de forma significativa ($p < 0,01$), o muco gástrico para $62,17 \pm 6,79$ μg de Azul de Alcian/g de tecido glandular (**Tabela 19**).

5.7.4. Efeito do Cineol na Atividade Antisecretória Ácida Gástrica em Ratos

O efeito de cineol 200 e 400 mg/Kg, v.o., sobre a secreção ácida total, coletada após 4 horas da ligação pilórica, em ratos, se encontra na **Tabela 20** e **Figuras 33 e 34**.

Nos animais controle, a média do volume coletado foi de $7,2 \pm 0,35$ mL, enquanto a acidez total foi de $208,62 \pm 25,63$ $\mu\text{Eq}[\text{H}^+]/\text{h}$. Cineol nas doses de 200 e 400 mg/Kg, via oral, reduziu o volume para $3,44 \pm 0,43$ mL ($p < 0,01$) e $2,62 \pm 0,32$ mL ($p < 0,01$) respectivamente, e diminuiu a acidez total para $53,56 \pm 18,46$ ($p < 0,01$) e $50,00 \pm 13,36$ $\mu\text{Eq}[\text{H}^+]/\text{h}$ ($p < 0,01$) respectivamente. O grupo tratado com cimetidina (100 mg/Kg, v.o.) reduziu o volume da secreção ácida gástrica para $1,07 \pm 0,18$ ($p < 0,01$) e a acidez total para $44,37 \pm 8,11$ ($p < 0,01$).

TABELA 19 - Efeito do cineol sobre o muco gástrico em ratos.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Muco Gástrico (μg de Azul de Alcian/g de tecido glandular)
Controle (veículo)	-	38,60 \pm 2, 19
Cineol	50	62,17 \pm 6,79**

Os valores representam a média \pm E.P.M. da concentração de Azul de Alcian (μ g) por grama de tecido glandular. Veículo (controle) e cineol (50 mg/Kg) foram administrados, por via oral, 45 min antes da administração de etanol absoluto (1 mL/animal). Os animais foram sacrificados 30 min após a administração de etanol. Foram utilizados 6 animais por grupo. ** p < 0,01 comparado ao controle (Teste t de Student).

TABELA 20 - Efeito do cineol e cimetidina sobre o volume do suco gástrico e acidez gástrica total após ligação pilórica em ratos.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Volume do Suco Gástrico (mL)	Acidez Gástrica Total ($\mu\text{Eq}[\text{H}^+]/\text{h}$)
Controle (veículo)	-	7,20 \pm 0,35	208,62 \pm 25,63
Cineol			
	200	3,44 \pm 0,43 ^{***}	53,56 \pm 18,46 ^{***}
	400	2,62 \pm 0,32 ^{***}	50,00 \pm 13,36 ^{***}
Cimetidina			
	100	1,07 \pm 0,18 ^{***}	44,37 \pm 8,11 ^{***}

Os valores representam a média \pm E.P.M. do volume do suco gástrico (mL) e da acidez gástrica total ($\mu\text{Eq}[\text{H}^+]/\text{h}$). Veículo (controle), cineol e cimetidina foram administrados, por via intraduodenal, imediatamente após a ligação do piloro. Os animais foram sacrificados 4 horas após a ligação do piloro. Foram utilizados grupos de 6 animais cada. ^{***} $p < 0,001$ (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

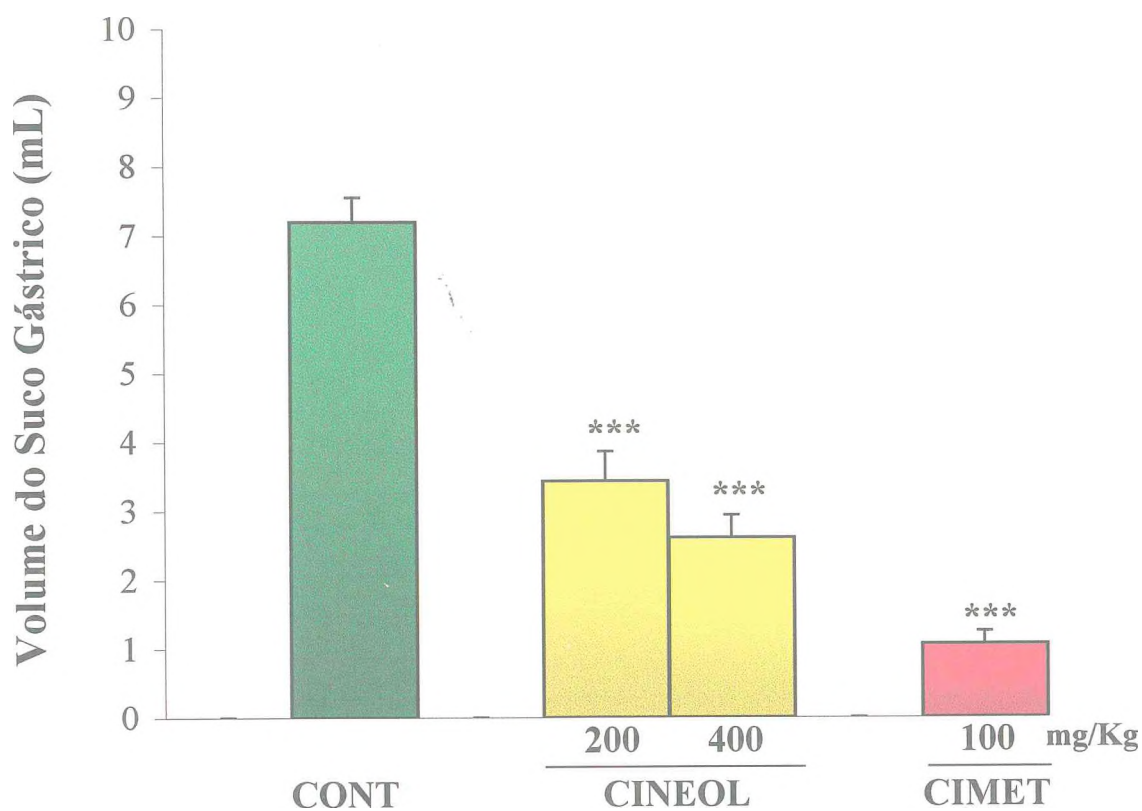


FIGURA 33 - Efeito da administração oral do cineol e cimetidina sobre o volume do suco gástrico após a ligação pilórica em ratos. Os valores representam a média \pm E.P.M. do volume do suco gástrico (mL) obtido após 4 h da ligação pilórica. Veículo (10 mL/Kg, v.o., controle, CONT), cineol (200 e 400 mg/Kg, v.o.) e cimetidina (100 mg/Kg, v.o., CIMET) foram administrados por via intraduodenal, imediatamente após a ligação do piloro. Foram utilizados 6 animais por grupo. *** $p < 0,001$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

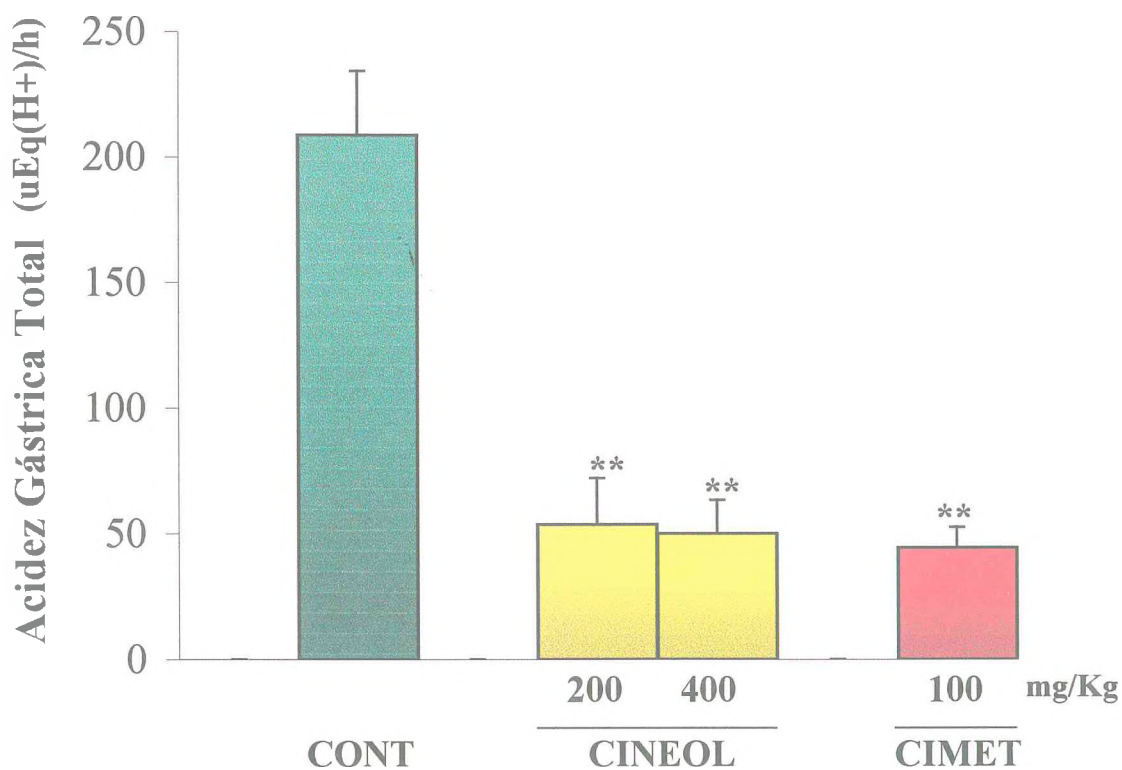


FIGURA 34 - Efeito da administração oral do cineol e cimetidina sobre a acidez gástrica total após ligação pilórica em ratos. Veículo (10 mL/Kg, v.o., controle, CONT), cineol (200 e 400 mg/Kg) e cimetidina (100 mg/Kg, CIMET) foram administrados, por via intraduodenal, imediatamente após a ligação do piloro. Os valores representam a média \pm E.P.M. da acidez gástrica total ($\mu\text{Eq}[\text{H}^+]/\text{h}$) obtida após 4 h de ligação pilórica. Foram utilizados grupos de 6 animais cada. ** $p < 0,01$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.7.5. Efeito de Cineol sobre o Esvaziamento Gástrico em Ratos

A **Tabela 21** e **Figura 35** mostram o efeito de cineol e atropina sobre o esvaziamento gástrico.

O tratamento dos animais com cineol (400 mg/Kg, v.o.) aumentou, de forma significativa ($p < 0,01$), a retenção gástrica ($39,56 \pm 2,55 \mu\text{g}$ de vermelho de fenol) quando comparado ao controle veículo ($14,42 \pm 0,87 \mu\text{g}$ de vermelho de fenol). Da mesma forma, atropina (2 mg/Kg, v.o.) aumentou, de forma significativa ($p < 0,05$), a retenção gástrica ($22,26 \pm 1,18 \mu\text{g}$ de vermelho de fenol) quando comparado ao controle veículo ($14,42 \pm 0,87 \mu\text{g}$ de vermelho de fenol).

TABELA 21 - Efeito do cineol e atropina sobre o esvaziamento gástrico em ratos.

Tratamento	Dose (mg/Kg, v.o.)	μg de Vermelho de Fenol/ Estômago
Controle (veículo)	-	14,42 \pm 0,87
Cineol	400	39,56 \pm 2,55 **
Atropina	2	22,26 \pm 1,18 *

Os valores representam a média \pm E.P.M. da concentração (μg) de vermelho de fenol no estômago. Cineol e atropina foram administrados 45 min antes da administração de vermelho de fenol (0,5 mg/Kg, v.o.). Os animais foram sacrificados 15 min após a administração de vermelho de fenol. Foram utilizados 6 animais por grupo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

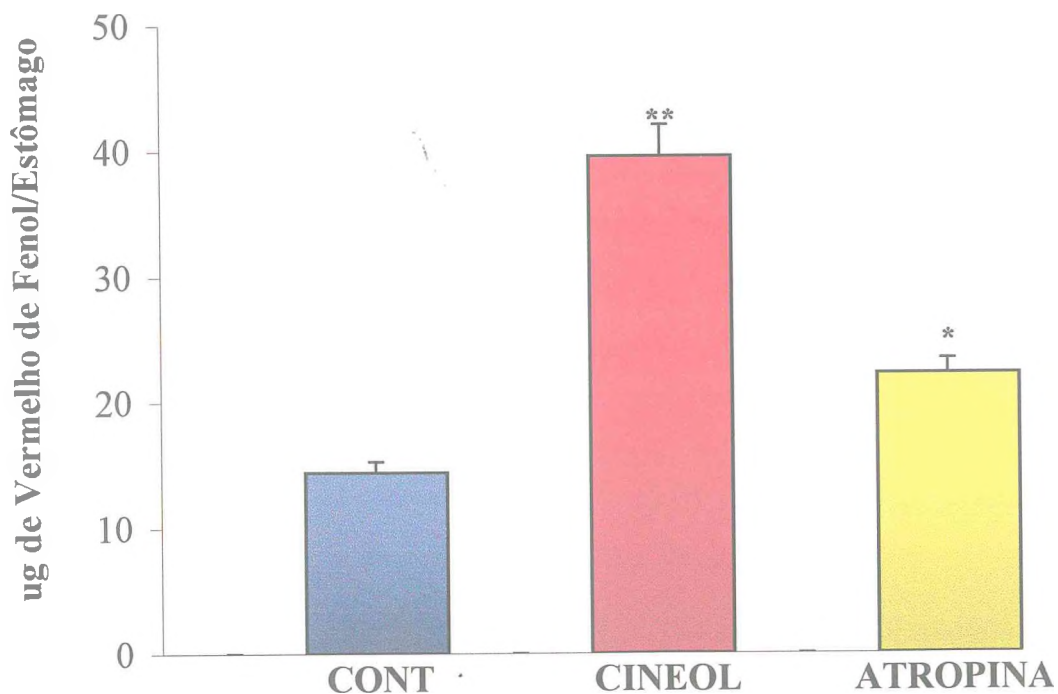


FIGURA 35 - Efeito da administração oral do cineol e atropina na retenção do volume gástrico em ratos. Veículo (10 mL/Kg, Controle, CONT), Cineol (400 mg/Kg) e atropina (2 mg/Kg) foram administrados, por via oral, 45 min antes do tratamento com vermelho de fenol (0,5 mg/Kg, v.o.). Os valores representam a média \pm E.P.M. da concentração (μ g) de vermelho de fenol no volume total do estômago. Foram utilizados grupos de 6 animais cada. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.8. ATIVIDADE ANTISECRETÓRIA DO CINEOL

5.8.1. Efeito do Cineol na Secreção Intestinal induzida por Toxina da Cólera em Ratos

A **Tabela 22** e a **Figura 36** mostram que nos animais que receberam apenas veículo (controle normal) mostraram secreção intestinal de $174,21 \pm 19,59$ mg/cm. O tratamento com a toxina ($10 \mu\text{g}/\text{alça}$ intestinal) aumentou de forma significativa ($p < 0,05$) a secreção intestinal para um valor de $250,93 \pm 47,53$ mg/cm.

A administração oral de cineol ($400 \text{ mg}/\text{Kg}$) reduziu de forma significativa ($p < 0,05$) a secreção intestinal induzida pela toxina ($250,93 \pm 47,53 \text{ mg}/\text{cm.}$) para um valor de $128,43 \pm 10,32 \text{ mg}/\text{cm}$.

O tratamento com 8-fenilteofilina ($8 \text{ mg}/\text{Kg}$, i.p.) 15 min antes de cineol ($400 \text{ mg}/\text{kg}$, v.o.) não alterou o efeito de cineol ($128,43 \pm 10,32 \text{ mg}/\text{cm}$) observado pelo seu valor de secreção intestinal de $109,35 \pm 3,87 \text{ mg}/\text{cm}$.

TABELA 22 - Efeito do cineol sobre a secreção intestinal induzida pela toxina da cólera em ratos.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Secreção Intestinal (mg/cm)
Controle normal	-	174,21 ± 19,59
Controle toxina	-	250,93 ± 47,53 ^a
Cineol	400, v.o.	128,43 ± 10,32 ^b
8-fenilteofilina	8, i.p.	
+	+	109,35 ± 3,87 ^b
Cineol	400, v.o.	

Os valores representam a média ± E.P.M. da secreção intestinal (mg/cm) nas alças intestinais. Veículo (controle toxina) e cineol foram administrados 45 min antes da injeção da toxina da cólera (10 µg/alça intestinal). 8-Fenilteofilina (8 mg/Kg, i.p.) foi administrado 15 min antes do tratamento com cineol (400 mg/Kg, v.o.). Foram utilizados 6 animais por grupo. ^a p < 0,05 comparado ao controle normal e ^b p < 0,05 comparado ao controle toxina (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

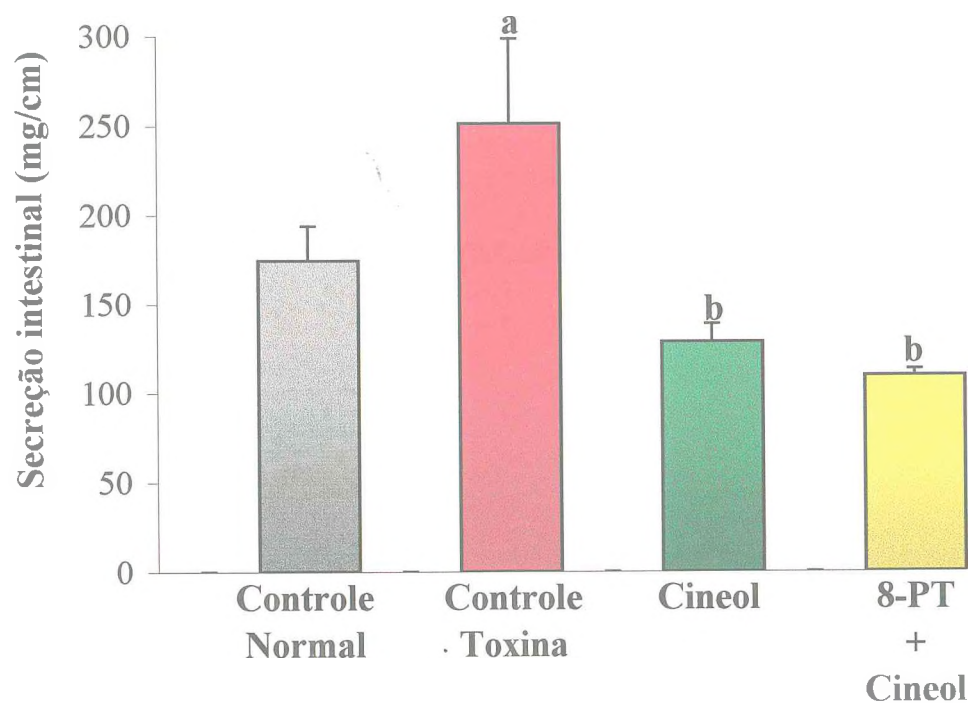


FIGURA 36 - Efeito do cineol sobre a secreção intestinal induzida pela toxina da cólera em ratos. Os valores representam a média \pm E.P.M. da secreção intestinal (mg/cm) nas alças intestinais. Veículo (controle toxina) e cineol (400 mg/Kg) foram administrados, por via oral, 45 min antes da injeção da toxina da cólera (10 μ g/alça intestinal). 8-Fenilteofilina (8 mg/Kg, i.p.) foi administrado 15 min antes do tratamento com cineol (400 mg/Kg, v.o.). Foram utilizados 6 animais por grupo. ^a $p < 0,05$ comparado ao controle normal e ^b $p < 0,05$ comparado ao controle toxina (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

5.9. EFEITO DO CINEOL NA TOXICIDADE INDUZIDA POR D-GALACTOSAMINA/LIPOPOLISSACARÍDEO EM CAMUNDONGOS

A **Tabela 23** mostra que a administração oral de cineol, nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg, promove proteção contra a mortalidade induzida por GalN/LPS de 0, 80 e 100 %, respectivamente. Dexametasona (1 mg/Kg, s.c.) protegeu 100 % dos animais contra a letalidade de GalN/LPS. Nenhuma proteção foi observada nos animais que receberam veículo (2 % de Tween 80 em água destilada; 10 mL/Kg, v.o.).

A administração de L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) e aminoguanidina (100 mg/Kg, s.c.) protegeu 20 e 100 % dos animais contra a morte, respectivamente. A administração de L-arginina (600 mg/Kg, s.c.) ou de nitroprussiato de sódio (0,5 mg/Kg, s.c.) não modificou o efeito protetor de cineol (**Tabela 24**).

A média de peso dos fígados dos animais tratados apenas com veículo (controle normal) foi de $876,00 \pm 72,02$ mg. Os animais que receberam GalN/LPS (700 mg/Kg + 0,5 µg/Kg, i.p.) apresentaram um aumento significativo ($p < 0,01$) no peso dos fígados ($1724,40 \pm 95,90$ mg) (**Tabela 25**).

Os animais tratados com dexametasona (1 mg/Kg, s.c.) ou cineol (400 mg/Kg, v.o.) antes da administração de GalN/LPS apresentaram redução significativa ($p < 0,01$) do peso dos fígados de um valor de $1724,40 \pm 95,90$ (GalN/LPS) para $1074,00 \pm 92,52$ e $1167,75 \pm 55,03$ mg, respectivamente (**Tabela 25**).

Os níveis séricos da alanina aminotransferase (ALT) para os grupos controle normal (veículo), GalN/LPS, dexametasona e cineol (400 mg/Kg, v.o.) foi de $31,29 \pm 13,74$; $48,89 \pm 4,60$; $41,63 \pm 8,14$ e $38,19 \pm 14,57$ U/L, respectivamente, não ocorrendo diferença significativa entre os grupos (**Tabela 25**).

Os níveis séricos da aspartato aminotransferase (AST) para os grupos controle normal (veículo), GalN/LPS, dexametasona e cineol (400 mg/Kg, v.o.) foi de $68,13 \pm 9,73$; $127,74 \pm 32,98$; $125,88 \pm 31,76$ e $126,88 \pm 31,76$ U/L,

respectivamente, não ocorrendo diferença significativa entre os grupos (Tabela 25).

Os níveis de malonaldeído para os grupos controle normal (veículo), GalN/LPS, dexametasona e cineol (400 mg/Kg, v.o.) foi de $6,22 \pm 1,37$; $10,74 \pm 2,40$; $6,59 \pm 0,80$ e $5,17 \pm 1,46$ μ moles de malonaldeído/g de tecido, respectivamente, não ocorrendo diferença significativa entre os grupos (Tabela 25).

A análise histológica dos fígados de animais tratados com veículo demonstrou tecido com arquitetura preservada, apresentando hepatócitos com disposição normal. O grupo tratado com GalN/LPS mostrou extensas áreas de necrose comprometendo a arquitetura do órgão, acompanhada de intensa hemorragia e congestão do sistema porta hepático. Presença de discreta microvascularização, pequenas áreas de necrose e hemorragia, porém com hiperplasia das células de Kupffer, foi observado no grupo que recebeu dexametasona. Nos animais tratados com cineol (400 mg/Kg, v.o.) observou-se moderada microvacuolização nos hepatócitos e pequenos focos necróticos, não se observando congestão de vasos ou áreas hemorrágicas (Figura 37 a e b e Figura 38 a e b).

TABELA 23 - Efeito do cineol e dexametasona sobre a toxicidade induzida por Galactosamina/LPS em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Letalidade	% de Proteção contra a morte
Controle (veículo)	-	10/10	0
Cineol	100, v.o.	10/10	0
	200, v.o.	02/10*	80
	400, v.o.	00/10*	100
Dexametasona	1, s.c.	00/10*	100

Os valores representam a letalidade e o percentual de proteção contra a morte após a administração intraperitoneal de uma solução de D-Galactosamina (GalN, 700 mg/Kg) e Lipopolissacarídeo (LPS, 5 µg/Kg) dissolvidos em solução salina normal e injetados conjuntamente (GalN/LPS) em um volume de 0,5 mL/animal. Veículo e cineol foram administrados 1 h antes e dexametasona 2 h antes do tratamento com GalN/LPS. Foram utilizados grupos de 10 animais cada. * $p < 0,05$ comparado ao controle (Teste do Qui-quadrado).

TABELA 24 - Efeito do óxido nítrico sobre a toxicidade induzida por Galactosamina/LPS em camundongos.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Letalidade	% de Proteção contra a morte
Controle (veículo)	-	10/10	0
Cineol	400, v.o.	00/10*	100
L-NAME	20, i.p.	08/10	20
Aminoguanidina	100, s.c.	00/10*	100
L-arginina + Cineol	600, s.c. + 400, v.o.	02/10*	80
Nitroprussiato + Cineol	0,5, s.c. + 400, v.o.	00/10*	100

Os valores representam a letalidade e o percentual de proteção contra a morte após a administração intraperitoneal de uma solução de D-Galactosamina (GalN, 700 mg/Kg) e Lipopolissacarídeo (LPS, 5 µg/Kg) dissolvidos em solução salina normal e injetados conjuntamente (GalN/LPS) em um volume de 0,5 mL/animal. Veículo e cineol foram administrados 1 h antes e L-NAME e aminoguanidina 30 min antes do tratamento com GalN/LPS. L-arginina e nitroprussiato de sódio foram administrados 15 min antes do tratamento com cineol (400 mg/Kg, v.o.). Foram utilizados grupos de 10 animais cada. * p < 0,05 comparado ao controle (Teste do Qui-quadrado).

TABELA 25 - Efeito do cineol sobre o peso dos fígados e níveis de transaminases e malonaldeído em camundongos.

Grupo	Peso dos Fígados (mg)	Transaminases Séricas (U/L)		Malonaldeído (μmoles/g)
		ALT	AST	
Controle normal	876,00 ± 72,02	31,29 ± 13,74	68,13 ± 9,73	6,22 ± 1,37
Controle GalN/LPS	1724,40 ± 95,90 ^a	40,89 ± 4,60	127,74 ± 32,98	10,74 ± 2,40
Dexametasona	1074,00 ± 92,52 ^b	41,63 ± 8,14	125,88 ± 31,76	6,59 ± 0,80
Cineol	1167,75 ± 55,03 ^b	38,19 ± 14,57	126,88 ± 31,76	5,17 ± 1,46

Os valores representam a média ± E.P.M. do peso dos fígados (miligramas), das concentrações séricas de ALT e AST (U/L) e dos níveis hepáticos de malonaldeído (μmoles/g de tecido). As transaminases foram analisadas 2 h após e o peso dos fígados e malonaldeído 4 h após a administração intraperitoneal de uma solução de D-Galactosamina (GalN, 700 mg/Kg) e Lipopolissacarídeo (LPS, 5 μg/Kg) dissolvidos em solução salina normal e injetados conjuntamente (GalN/LPS) em um volume de 0,5 mL/animal. Dexametasona (1 mg/Kg, s.c.) foi administrada 2 h antes e cineol (400 mg/Kg, v.o.) 1 h antes do tratamento com GalN/LPS. * p < 0,05 comparado ao controle normal e ^b p < 0,01 comparado ao controle GalN/LPS (ANOVA e Teste de Student Newman Keuls).

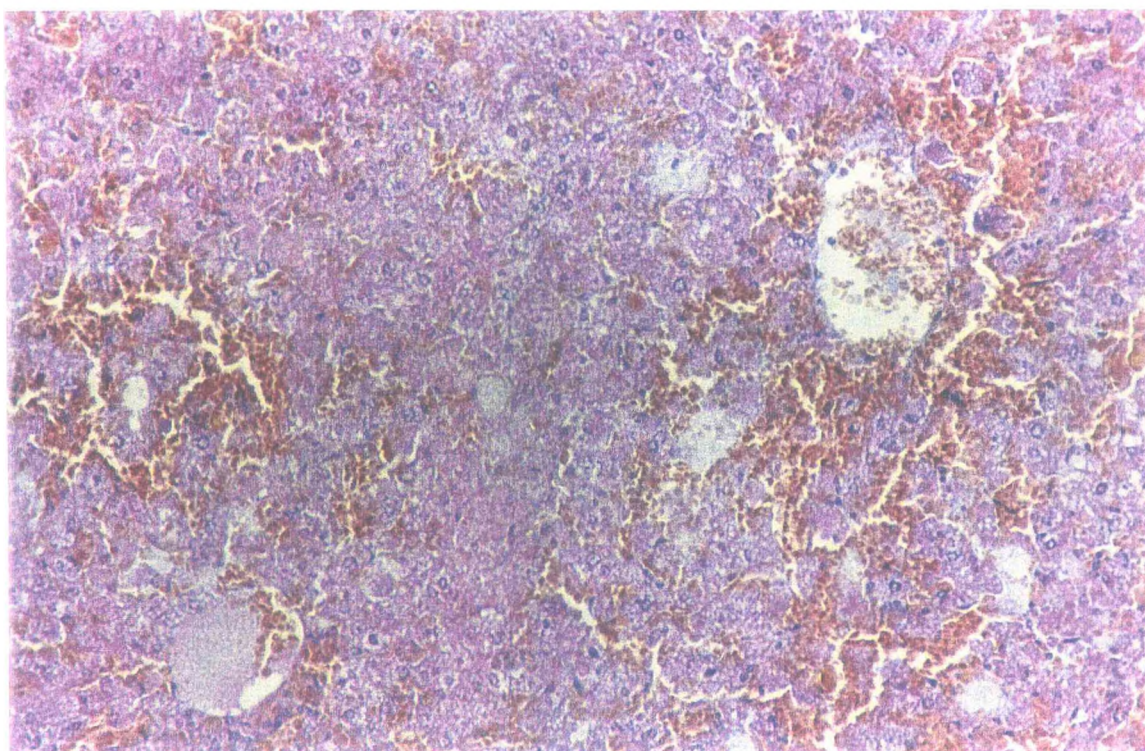
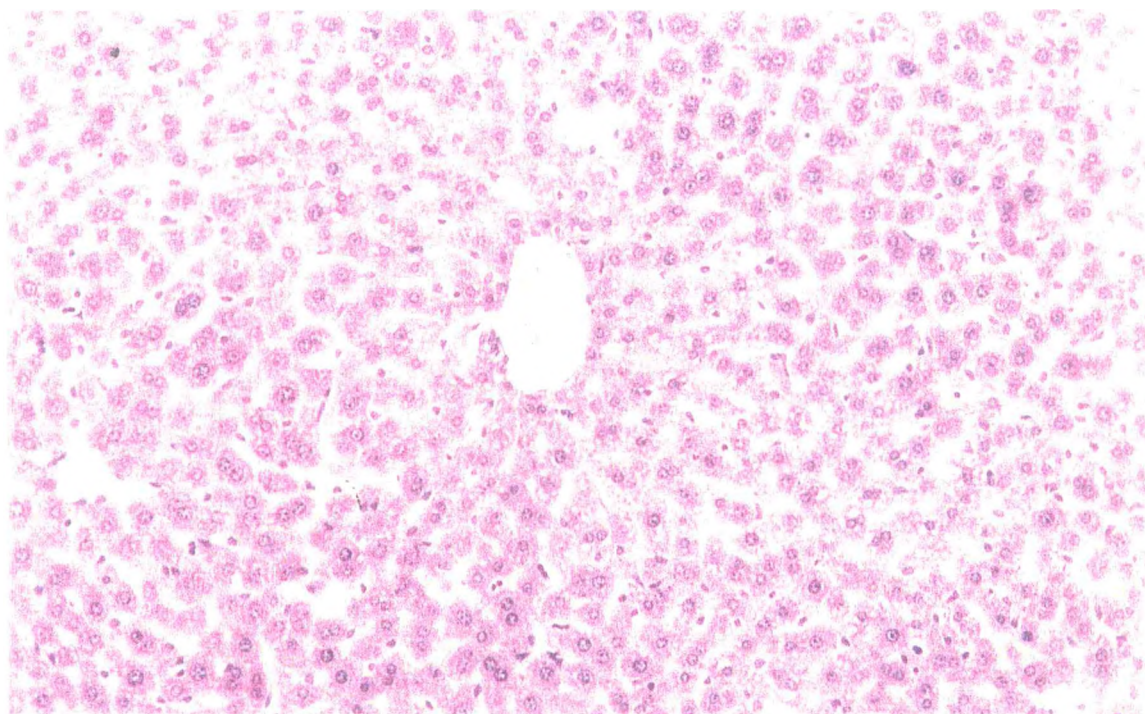


FIGURA 37 - Microfotografias de fígados de camundongos. Fígado tratado com veículo (Controle Normal) (A) e com D-Galactosamina (700 mg/Kg) / Lipopolissacarídeo (5 μ g/Kg) (Controle Toxina) (B) (HE, 400x).

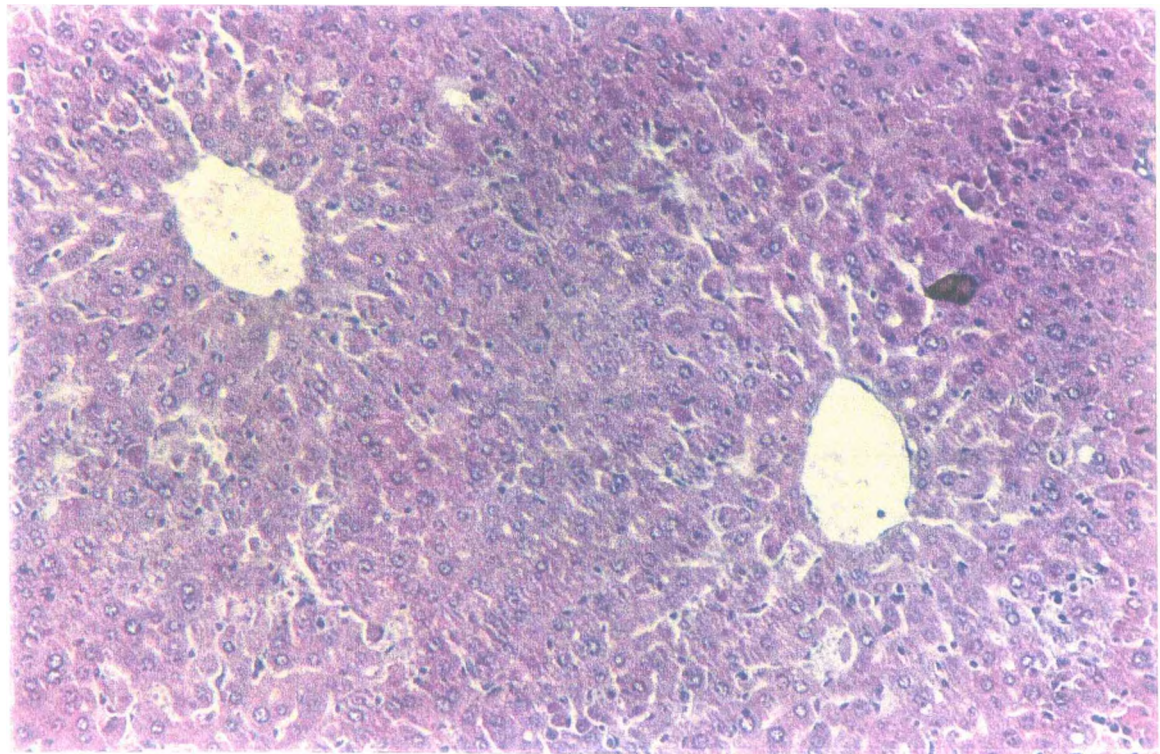
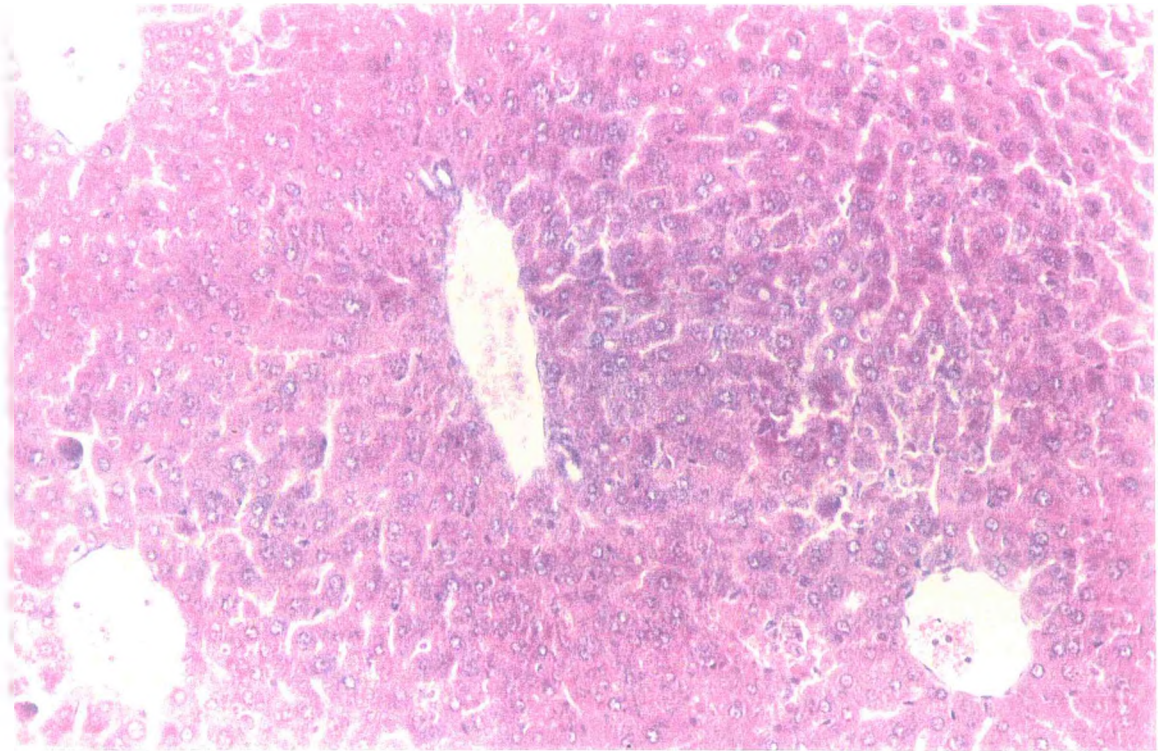


FIGURA 38 - Microfotografias de fígados de camundongos. Fígado tratado com dexametasona (1 mg/Kg) (A) e com cincol (400 mg/Kg) (B) (HE, 400x).

5.10. TOXICIDADE DO CINEOL NA REPRODUÇÃO

5.10.1. Efeito do Cineol sobre o Ciclo Estral em Ratos

Os resultados referentes à ação de cineol sobre o ciclo estral em ratos, encontram-se demonstrados na **Tabela 26**.

Os animais que receberam cineol 200 mg/Kg, v.o., apresentaram-se em estro $2,0 \pm 0,0$; $2,0 \pm 0,4$ e $1,6 \pm 0,2$ vezes no período de pré-tratamento, tratamento e pós-tratamento, respectivamente; enquanto que os animais que receberam 400 mg/Kg, v.o., apresentaram a fase estro $2,0 \pm 0,0$; $1,6 \pm 0,5$ e $1,6 \pm 0,2$ vezes para os respectivos períodos de observação.

Os animais pertencentes ao grupo controle apresentaram a fase estro $2,0 \pm 0,0$; $2,0 \pm 0,0$ e $1,83 \pm 0,3$ vezes em relação aos períodos de observação do esfregaço vaginal descritos acima.

Quando comparado ao controle, os animais que receberam cineol não alteraram o período de ocorrência da fase estro.

TABELA 26 - Efeito do cineol sobre o ciclo estral em ratos.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Nº de Ocorrência da Fase Estro		
		Pré-tratamento (10 dias)	Tratamento (10 dias)	Pós-Tratamento (10 dias)
Controle (veículo)	-	2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0	1,8 ± 0,3
Cineol	200	2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,4	1,6 ± 0,2
	400	2,0 ± 0,0	1,6 ± 0,5	1,6 ± 0,2

Os valores representam a média ± E.P.M. do número de ocorrência da fase estro. Foram utilizados grupos de 6 animais cada.

5.10.2. Efeito do Cineol na Gravidez em Ratos

Animais tratados por via oral com cineol (200 e 400 mg/Kg) durante os dias 1 a 7 ou 8 a 15 da gravidez, não demonstraram sinais de toxicidade ou morte. Estes animais não apresentaram diferença significativa no peso corpóreo quando comparados ao controle (**Tabelas 27 e 28**).

As fêmeas grávidas, tratadas com cineol (200 e 400 mg/Kg, v.o.), nos dias 1 a 7 da gravidez, apresentaram reduzido índice de gravidez (proporção de gravidez entre fêmeas com esperma positivo) e de peso dos filhotes quando comparado ao controle (**Tabela 29**).

O índice de gravidez e a média do número e peso dos filhotes não foram alteradas significativamente pelo tratamento com cineol (200 e 400 mg/Kg, v.o.), nos dias 8 a 15 da gravidez, quando comparado ao controle (**Tabela 30**).

Os filhotes nascidos de fêmeas tratadas com veículo ou cineol (200 e 400 mg/Kg, v.o.), nos dias 1 a 7 ou 8 a 15 da gravidez, não apresentaram sinais macroscópicos de teratogenicidade.

TABELA 27 - Efeito do cineol sobre o peso corpóreo de fêmeas tratadas nos dias 1 a 7 da gravidez.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Peso dos Ratos (mg)		
		1 ^o dia	7 ^o dia	20 ^o dia
Controle (veículo)	-	178,14 ± 7,63	185,28 ± 7,80 (+ 3,93)	228,71 ± 15,38 (+ 28,38)
Cineol	200	207,86 ± 10,24	196,00 ± 6,69 (- 5,70)	216,14 ± 12,81 (+ 3,98)
	400	214,17 ± 9,74	207,00 ± 8,09 (- 3,35)	227,83 ± 11,49 (+ 6,38)

Os valores representam a média ± E.P.M. do peso corpóreo, em miligramas, de ratos fêmeas, tratados durante os dias 1 a 7 da gravidez. Veículo (controle) e cineol foram administrados por via oral. Os valores entre parênteses representam o percentual de aumento (+) ou de diminuição (-) do peso corpóreo. Foram utilizados 6-7 animais por grupo.

TABELA 28 - Efeito do cineol sobre o peso corpóreo de fêmeas tratadas nos dias 8 a 15 da gravidez.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Peso dos Ratos (mg)		
		8 ^o dia	15 ^o dia	20 ^o dia
Controle (veículo)	-	189,28 ± 7,09	201,71 ± 9,54 (+ 6,57)	232,57 ± 10,20 (+ 22,87)
Cineol	200	179,67 ± 2,59	187,00 ± 3,08 (+ 4,08)	203,00 ± 5,57 (+ 12,98)
	400	182,13 ± 6,72	174,00 ± 10,17 (- 4,46)	188,25 ± 9,87 (+ 8,19)

Os valores representam a média ± E.P.M. do peso corpóreo, em miligramas, de ratos tratados durante os dias 8 a 15 da gravidez. Veículo (controle) e cineol foram administrados por via oral. Os valores entre parênteses representam o percentual de aumento (+) ou de diminuição (-) do peso corpóreo. Foram utilizados 6-7 animais por grupo.

TABELA 29 - Efeito do cineol em ratos tratados nos dias 1 a 7 da gravidez.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Nº de Fetos/ Rato	Peso dos Fetos (mg)	Índice de Gravidez (gravidez/fêmeas com esperma positivo)
Controle (veículo)	-	9,00 ± 1,09	3017,33 ± 45,13	72
Cineol	200	6,70 ± 1,45	2173,94 ± 101,93 ^{***}	57
	400	9,00 ± 1,08	1917,75 ± 37,26 ^{***}	50

Veículo (controle) e cineol foram administrados, por via oral, durante os dias 1 a 7 da gravidez. Os animais foram sacrificados no 20^o dia da gravidez. Foram utilizados 6-7 animais por grupo. ^{***} p < 0,001 comparado ao controle (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

TABELA 30 - Efeito do cineol em ratos tratados nos dias 8 a 15 da gravidez.

Grupo	Dose (mg/Kg, v.o.)	Nº de Fetos/ Rato	Peso dos Fetos (mg)	Índice de Gravidez (gravidez/fêmeas com esperma positivo)
Controle (veículo)	-	8,80 ± 0,73	1633,61 ± 49,77	72
Cineol	200	7,75 ± 1,03	1674,65 ± 69,96	67
	400	4,80 ± 1,28	1642,91 ± 56,58	63

Veículo (controle) e cineol foram administrados, por via oral, durante os dias 8 a 15 da gravidez. Os animais foram sacrificados no 20^o dia da gravidez. Foram utilizados 6-7 animais por grupo.

6. DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

A injeção subplantar de cineol, na pata posterior de rato, produz um edema dose e tempo dependente. A análise histológica das patas lesadas demonstrou intenso exudato inflamatório com polimorfonucleares e acentuado grau de degranulação de mastócitos.

Para compreensão dos mecanismos envolvidos neste efeito edematogênico, vários agentes farmacológicos foram utilizados.

Difenidramina, antihistamínico (receptor H_1), metisergida, antiserotoninérgico (receptor 5-HT) e ciproeptadina, antihistamínico e antiserotoninérgico (receptor H_1 e 5-HT) (Maling et al, 1974) suprimiram significativamente o edema de cineol. Desde que a ativação de mastócitos libera mediadores, incluindo histamina e serotonina (Schwartz & Austen, 1984), que são as principais responsáveis pelo edema de pata em ratos (Rowley & Bendit, 1956), investigamos a possibilidade da ativação dos mastócitos ser responsável pelo edema de pata de cineol.

O tratamento com injeções repetidas de Composto 48/80, para alcançar a depleção de mediadores derivados de mastócitos, tem sido uma estratégia de sucesso na definição do papel dos mastócitos, em uma variedade de situações experimentais (Di Rosa et al, 1971). Os resultados demonstram completa ausência de edema pelo cineol em animais pré-tratados com Composto 48/80. Os dados obtidos com cetotifeno e cromoglicato de sódio, estabilizadores de membrana de mastócitos, que bloqueiam a liberação de mediadores químicos (Greenwood, 1982), mostrou que estes também bloqueiam o edema de pata induzido por cineol. Em adição, cineol foi capaz de produzir degranulação de mastócitos peritoneais *in vitro*, de maneira similar ao Composto 48/80. Essas observações indicam que os mastócitos exercem um papel predominante no edema de pata induzido por cineol.

O edema de pata induzido por cineol se mantém por mais tempo que o produzido pelo Composto 48/80. Contudo, ao contrário de cineol, o tratamento sistêmico com Composto 48/80 aboliu completamente o edema de cineol. Presumivelmente, dois mecanismos diferentes estão envolvidos no edema de cineol. Inicialmente, cineol pode promover a degranulação de mastócitos de maneira similar ao Composto 48/80 e secundariamente, pode estimular a síntese “de novo” de outros mediadores e fatores que podem dar origem a uma reação edematogênica mais prolongada. A ativação de mastócitos não somente libera mediadores estocados e pré-formados, mas também induz a síntese de um número de mediadores que incluem metabólitos do ácido aracdônico, como prostaglandinas e leucotrienos, assim como de PAF e adenosina (Befus et al, 1988).

Os inibidores de ciclooxigenase, indometacina e fenilbutazona, e o corticosteróide, dexametasona, foram inefetivos em inibir a primeira hora do edema, a qual envolve largamente as aminas histamina e serotonina. Essas observações estão de acordo com os estudos que mostram a inefetividade de cortisona e fenilbutazona em modificar o edema induzido pela dextrana, no qual histamina e serotonina exercem um papel predominante (Stucki & Thompson, 1958). Indometacina, fenilbutazona e dexametasona foram efetivos em inibir o pico de edema, na 2ª hora, assim como nos tempos subsequentes, reforçando o conceito que cineol não somente libera histamina e serotonina mas também promove a síntese de outros mediadores.

O mecanismo pelo qual cineol ativa mastócitos e libera mediadores químicos não é claro. Um número de substâncias como Substância P (Foreman et al, 1983), fosfolipases e lipoxigenases (Kennerly et al, 1979; Wang & Teng, 1990) e adenosina (Fozard et al, 1996; Marquardt, 1994) pode causar ativação de mastócitos e liberação de mediadores. Neste trabalho, ácido nordihidroguirético, um inibidor de lipoxigenase, nem a depleção de Substância P, pela capsaicina, não promoveu alteração significativa do edema de cineol, sugerindo a improvável participação de leucotrienos e neuropeptídeos no edema de cineol. O

pré-tratamento com WEB 2170, um antagonista do PAF, também não modificou o edema de cineol, mostrando que este mediador não está envolvido neste edema. Interessantemente, ratos pré-tratados com talidomida, um inibidor seletivo do Fator de Necrose Tumoral (TNF- α) (Sampaio et al, 1994) mostrou significativa diminuição do edema de cineol. Talidomida é considerada uma droga clínica de escolha para suprimir a inflamação associada a leprose (Sampaio et al, 1994). É possível que o TNF- α possa exercer alguma influência sobre a degranulação de mastócitos.

Recentemente, Fozard et al (1996) e Sawynok et al (1997) mostraram evidências que a ativação de receptores da adenosina A_3 degranula mastócitos e produz nocicepção e edema de maneira similar ao Composto 48/80. As respostas pela ativação do receptor A_3 são abolidas em animais depletados de seus mediadores de mastócitos por repetidas injeções de Composto 48/80 (Hannon et al, 1995). Nossos resultados mostram que o efeito edematogênico local de cineol simula aquele produzido pela ativação de receptores A_3 . Para compreensão do mecanismo de degranulação de mastócitos induzida pelo cineol, animais foram tratados com 8-fenilteofilina (8-PT), um antagonista não seletivo de receptores A_1 e A_2 . Os resultados mostram que enquanto 8-PT falhou em alterar a resposta de cineol, NECA promoveu significativa inibição do edema de pata *in vivo* e da degranulação de mastócitos *in vitro*. Essas observações nos permite gerar a hipótese que os mastócitos são dotados com receptores de adenosina na superfície da membrana que controlariam sua ativação, isto é, a ativação de receptores A_3 estimularia a degranulação, enquanto a ativação de receptores A_1 e A_2 estabilizaria sua secreção, através de diferentes mecanismos de transdução de sinal.

Os mastócitos são conhecidos por exercerem um importante papel em desordens alérgicas, como a asma brônquica e rinite. A degranulação de mastócitos parece ser necessária para a reação de fase tardia e pode ser reproduzida pelo Composto 48/80 (Oertel & Kaliner, 1981; Mota, 1995). O uso de antígenos ou substâncias inflamatórias, podem produzir reações que

assemelham-se a doenças que ocorrem naturalmente (Schleimer, 1985).

Desde que cineol foi capaz de produzir uma resposta edematogênica imediata (30 min e 1 h) e também de fase tardia (2 h a 5 h), nós assumimos que cineol é capaz de induzir uma reação tipo anafilactóide e este modelo poderia permitir a seleção de drogas com potencial atividade antianafiláctica e antiinflamatória.

Em conclusão, os dados apresentados mostram que cineol promove degranulação de mastócitos e induz edema de pata em ratos. A inibição da degranulação de mastócitos é de potencial interesse, desde que esta pode ser a base da terapia em doenças alérgicas e inflamatórias. Sugerimos que o edema de pata induzido por cineol pode ser um modelo útil para a seleção de compostos com potencial atividade antialérgica/antianafiláctica ou antiinflamatória (Santos & Rao, 1997d; Santos e Rao, 1998).

A injeção subplantar de cineol, na pata posterior de camundongos induz nocicepção, indicando uma natureza irritante deste composto. Estudos realizados anteriormente demonstraram que cineol é capaz de induzir edema, na pata posterior de ratos, e que os mastócitos exercem um papel fundamental neste efeito edematogênico (Santos & Rao, 1997). Vários mediadores inflamatórios como bradicinina, serotonina, histamina e prostaglandina E₂ são capazes de excitar terminais nervosos nociceptivos e induzir dor (Beck & Handwerker, 1974; Fock & Mense, 1976; Mizumura et al, 1990; Khan et al, 1992; McMohan & Kolzenberg, 1992).

A resposta nociceptiva de cineol, manifestada no ato do animal lambar a pata injetada com cineol, foi qualitativamente similar a resposta nociceptiva produzida pelo Composto 48/80, um conhecido degranulador de mastócitos (He et al, 1990). Contudo, em camundongos desensitizados com repetidas administrações de Composto 48/80, a ato de lambar a pata pelo composto 48/80, mas não pelo cineol, foi abolido. Adicionalmente, a nocicepção induzida por cineol é resistente aos estabilizadores de membrana de mastócitos, cetotifeno e cromoglicato de sódio. Cox (1967) e Sugimoto et al (1998) demonstraram que não há inibição do comportamento de coçar (“scratching”) induzido por

Composto 48/80 pelo cromoglicato de sódio. Esses achados diferem marcadamente das observações em ratos, onde o edema de pata induzido por cineol foi diminuído pelo pré-tratamento com cetotifeno assim como em ratos desensibilizados por repetidas injeções de Composto 48/80 (Santos & Rao, 1997). Essas discrepâncias podem possivelmente dever-se a existência de subpopulações de mastócitos, que diferem em ratos e camundongos, particularmente, e em seu conteúdo de proteases granulares que podem exibir variações na sensibilidade a estimulação e na susceptibilidade à drogas administradas exogeneamente (Miller et al, 1989).

A nocicepção induzida por cineol foi marcadamente inibida com o antagonista de receptor H_1 , difenidramina, e com o antagonista de receptor histamina/serotonina, ciproeptadina, mas não por metisergida, um antagonista de receptor serotoninérgico ($5-HT_1/5-HT_2$) (Zifa & Fillion, 1992). A ausência de efeito do antagonista de serotonina enquanto os antihistamínicos são efetivos não é um argumento contra o envolvimento de mastócitos na nocicepção produzida por cineol, desde que os efeitos da serotonina sobre neurônios aferentes parece ser mais sujeito a inibição por antagonistas de receptores $5-HT_3$ (Damas et al, 1997). O bloqueio seletivo do comportamento nociceptivo de cineol por ciproeptadina e difenidramina sugere que há participação da degranulação de mastócitos e conseqüentemente da liberação de histamina e serotonina. Desde que histamina pode produzir prurido e dor pela ativação de neurônios sensoriais (McMohan & Koltzenburg, 1992; Hong & Abbott, 1994), assumimos que a histamina liberada após a degranulação de mastócitos locais, pelo cineol, contribui para a nocicepção em camundongos.

Neuropeptídeos, como a neurotensina e substância P, induzem degranulação de mastócitos (Yano et al., 1989) que pode ser inibida por antagonistas de substância P e opióides (Bartho & Holzer, 1985; Foreman & Piotrowski, 1985). A nocicepção induzida por cineol foi inibida pelo pré-tratamento com morfina, um analgésico opióide; mas não por 7-nitroindazol, um inibidor de óxido nítrico sintase neuronal ou pela desensitização pela capsaicina,

sugerindo que nem neuropeptídeos sensoriais, nem o óxido nítrico estão envolvidos. É provável que morfina iniba a nocicepção de cineol por um mecanismo modulatório ao nível espinhal ou supraespinhal atingindo os receptores opióides. O bloqueio dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) inibe principalmente as formas de nocicepção por sensibilização central (McMohan et al, 1993; Dickenson, 1994). O fato de cetamina, um antagonista não competitivo dos receptores NMDA (Yamamura et al, 1990), atenuar significativamente a resposta nociceptiva de cineol indica a possibilidade de ativação de receptores NMDA pós-sinápticos na espinha dorsal, levando a uma excitabilidade persistente de neurônios espinhais transmissores da dor.

A adenosina tem sido proposta estar envolvida na patofisiologia da dor neuropática (Reeve & Dickenson, 1995). Estudos mostram reduzidos níveis de adenosina nos fluidos corpóreos de pacientes com dor neuropática que pode ser aliviada pela adenosina endógena (Sollevi et al, 1995; Guiev et al, 1996). Adenosina é conhecida por interagir com pelo menos quatro tipos de receptores acoplados à proteína G, denominados A_1 , A_{2A} , A_{2B} e A_3 (Fredholm et al, 1994). Em roedores, a ativação de receptores A_1 produz um efeito antinociceptivo local (Daval et al, 1991) enquanto a ativação de receptores A_3 produz uma nocicepção possivelmente através da degranulação de mastócitos e liberação de substâncias mediadoras, histamina e 5-hidroxitriptamina (Sawynok et al, 1997).

No presente estudo, para esclarecer o papel da adenosina na nocicepção induzida por cineol, animais foram pré-tratados com antagonistas ou agonistas da adenosina de várias naturezas. Os resultados mostram que cafeína, um antagonista não seletivo, e 8-fenilteofilina, um antagonista não seletivo de receptores A_1 e A_2 (Fredholm et al, 1994) aumentaram a resposta nociceptiva, enquanto CPA, agonista seletivo de receptores A_1 (Jacobson et al, 1992) e NECA, um agonistas não seletivo de receptores A_1 e A_2 (Bruns, 1986) marcadamente reduziram a resposta nociceptiva de cineol. A ativação de receptores A_3 parece requerer uma relativa alta concentração de adenosina, como pode ocorrer durante a hipóxia e outros danos celulares que podem ser

contrabalanceados pela estimulação de subtipos de receptores A_1 e A_2 (Jacobson, 1998). Em nossas condições experimentais, é provável que cineol, por sua ação irritante local, libere adenosina endógena em altas concentrações a partir do tecido lesado que favoreça a ativação de receptores A_3 com uma conseqüente degranulação e liberação de mediadores. A redução da nocicepção induzida por cineol pelos agonistas de receptores A_1 e A_2 refletem essa possibilidade. Adicionalmente, o presente estudo demonstra que nifedipina atenua a resposta nociceptiva de cineol de maneira significativa. Dados de literatura indicam que drogas do tipo diidropiridina, como a nifedipina, ligam-se não seletivamente aos receptores A_3 e a outros subtipos de receptores (Jiang et al, 1997), deste modo nifedipina pode bloquear a nocicepção de cineol por uma ligação não específica aos receptores da adenosina.

Em conclusão, os dados mostram evidência de que os mastócitos são peças chave na nocicepção induzida por cineol em camundongos e que este pode promover a degranulação de mastócitos, mediada pelos receptores A_3 , cuja ativação produz nocicepção e edema (Fozard et al, 1996; Guo et al, 1997; Sawynok et al, 1997). A injeção subplantar de cineol, em camundongos, pode ser utilizada como um modelo agudo de nocicepção para selecionar substâncias com atividade analgésica.

Estudos com modelos animais de inflamação aguda, como o edema de pata de rato induzido carragenina, têm demonstrado que na resposta vascular aguda (vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular) estão envolvidas três fases distintas: a primeira fase com a liberação simultânea de histamina e serotonina, nas concentrações em que cada amina exerce seu efeito máximo na permeabilidade vascular; a segunda fase, por liberação de cininas, como a bradicinina, e a fase terminal por prostaglandinas, presentes no exsudato, 4 horas após a injeção de carragenina. Contudo a ação de todos esses mediadores parece ser dependente da presença do sistema complemento (Di Rosa et al, 1971).

Estudos recentes sugerem uma provável atividade antiinflamatória de cineol, baseado nos resultados obtidos com monócitos humanos *in vitro*

(Jwergens et al, 1998a) e *ex vivo* (Jwergens et al, 1998b). Nestes trabalhos, cineol foi capaz de inibir significativamente a produção de Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF- α), Interleucina 1-beta (IL-1 β), Leucotrieno B₄ (LTB₄), Tromboxano B₂ (TXB₂) e Prostaglandina E₂ (PGE₂). Desde que a diminuição na formação de mediadores inflamatórios pode contribuir para uma atividade antiinflamatória, investigamos o efeito de cineol em modelos experimentais de inflamação.

O edema de pata posterior por carragenina, em ratos, é um teste adequado para avaliar drogas antiinflamatórias e tem sido usado frequentemente para testar o efeito antiedematogênico de produtos naturais (Winter et al, 1962; Della Loggia et al, 1986; Villar et al, 1987; Ferrandiz & Alcaraz, 1991). Além disso, este modelo mostra proporcionalidade entre a dose testada em laboratório e a dose clínica (Otterness & Gaus, 1988). A carragenina constitui um agente flogístico de escolha para avaliar drogas antiinflamatórias por depender inteiramente de um estímulo local, não apresentar potencial antigênico, possuir um elevado grau de reprodutibilidade e sua ação inflamatória pode ser inibida por drogas antiinflamatórias esteroidais e não esteroidais (Winter et al, 1962).

O edema de pata induzido por dextrana (Stucki & Thompson, 1958) é um modelo útil para detectar efeito antiedematogênico de substâncias úteis no tratamento da urticária (Kaplan & Beaven, 1976), edema pulmonar e outros tipos de reações anafiláticas (Goth & Johnson, 1975; Beaven, 1978). O edema de pata induzido por este composto envolve a degranulação de mastócitos, e conseqüentemente a liberação de histamina e serotonina, as quais contribuem para aumentar a permeabilidade vascular e o extravasamento de fluido (Parrat & West, 1957; Jori et al, 1961).

No modelo de edema de pata induzido por carragenina, cineol (400 mg/Kg, v.o.) reduziu, de forma significativa, o volume do edema, medido na 3^a hora após a injeção da carragenina, tempo este onde o infiltrado de neutrófilos já é expressivo. A indometacina (5 mg/Kg, v.o.), conhecido agente antiinflamatório não esteroidal, reduziu significativamente o edema na 3^a hora após a injeção do

agente flogístico. Por outro lado, cineol não inibiu o edema de pata induzido por dextrana.

Estudos recentes sugerem que a adenosina pode agir como um mediador antiinflamatório endógeno (Rosengren et al, 1995; Bozkurt et al, 1998; Schrier et al, 1990). Agonistas da adenosina, por ação direta ou indireta, têm demonstrado inibir a dor inflamatória no edema de pata da carragenina e no modelo de hiperalgesia térmica (Poon & Sowynok, 1998). Deste modo, a provável participação da adenosina endógena no efeito antiinflamatório de cineol foi investigada, empregando o antagonista não seletivo de receptores da adenosina, teofilina (Stiles, 1991). Contudo, os resultados obtidos indicam que a ineficácia da teofilina em reverter o efeito inibitório de cineol no edema da carragenina sugere a não participação dos adenoceptores.

A carragenina e a dextrana induzem aumento da permeabilidade vascular por diferentes caminhos. Enquanto dextrana induz a acumulação de fluidos devido a degranulação de mastócitos e conseqüentemente a liberação de mediadores inflamatórios, como histamina e serotonina, com poucas proteínas e neutrófilos; a carragenina, por sua vez, o faz com um exsudato contendo grande número de neutrófilos e rico em proteínas (Lo Almeida et al, 1982). Portanto, cineol parece inibir processos inflamatórios dependentes de leucócitos polimorfonucleares, possivelmente por inibir o metabolismo do ácido aracdônico, inibindo a ciclooxigenase, e conseqüentemente suprimindo a liberação de mediadores inflamatórios, como prostaglandinas.

Agentes antiinflamatórios e morfina falham em inibir o edema da dextrana, enquanto clorpromazina, epinefrina, efedrina, anti-histamínicos e doses anestésicas de pentobarbital bloqueiam a formação deste edema (Stucki & Thompson, 1958). Courvoisier & Ducrot (1955) sugerem que a inibição do edema da dextrana pode ocorrer por: (i) efeito direto de inibir a permeabilidade tissular ou a dinâmica de fluidos; (ii) antagonismo específico de agentes diretamente responsáveis pelo edema e (iii) pela interrupção de processos nervosos ou humorais que levam a formação de agentes edematogênicos. A

ausência de atividade de cineol, no edema da dextrana, indica que este não possui ação vasoativa direta, propriedade antagonista específica ou que interrompa processo neurohumorais.

No modelo de granuloma inflamatório, partículas inertes, como algodão, quando introduzidas no tecido conectivo de animais experimentais, provocam uma resposta inflamatória aguda transitória, que é seguida por uma intensa acumulação de macrófagos e formação de granuloma (Boros, 1978). A formação de granuloma é acompanhada pela síntese de prostaglandina E_2 (PGE_2), prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) e tromboxano A_2 (TXA_2). A PGE_2 liberada pelas células endoteliais e da musculatura lisa e pelos macrófagos, é um potente vasodilatador, aumentando a permeabilidade da membrana e promovendo quimiotaxia de células inflamatórias. A $PGF_{2\alpha}$ promove hiperplasia e hipervascularização no local da inflamação. O TXA_2 liberado das plaquetas induz agregação plaquetária e vasoconstricção. Cineol, nas doses de 200 e 400 mg/Kg, administrado por via oral, diariamente, durante 7 dias, promoveu uma significativa redução do peso úmido e principalmente do peso seco dos granulomas, possivelmente cineol inibe a formação do granuloma interferindo com o metabolismo do ácido aracdônico, agindo na fase exsudativa e principalmente na fase proliferativa da reação inflamatória.

Nas células da musculatura lisa vascular, as proteínas actina e miosina controlam a vasodilatação e vasoconstricção, sendo a vasodilatação o componente chave da resposta inflamatória induzida por mediadores vasoativos, como histamina, serotonina e bradicinina, pela promoção da contração endotelial (Warren, 1993). Apesar de cineol ter inibido a permeabilidade capilar induzida por ácido acético, é improvável que o mecanismo de ação envolva a interferência com histamina e serotonina, desde que cineol falhou em inibir o edema de pata induzido por dextrana, onde estes mediadores exercem um papel fundamental. Provavelmente um mecanismo envolvendo a inibição da produção de mediadores inflamatórios possa ser responsável por esta atividade, desde que já foi relatada

uma inibição da produção de mediadores inflamatórios por cineol (Jwergens et al, 1998a; Jwergens et al., 1998b).

Em sumário, cineol demonstrou um efeito antiinflamatório, cujo mecanismo de ação pode envolver a supressão da produção de mediadores inflamatórios. Adicionalmente, cineol potencializou o tempo de sono induzido por pentobarbital, indicando uma ação depressora no Sistema Nervoso Central (SNC). Desde que anestésicos, como a uretana, podem atenuar o edema de pata induzido por carragenina (Griswold et al., 1982), é aceitável que a ação depressora no SNC possa também contribuir para a atividade antiinflamatória de cineol. A administração oral de cineol, em doses acima de 2 g/Kg, em camundongos, não produziu mortalidade. Estudos de Kristiansen & Madsen (1995) mostram que ratos que receberam cineol, via oral, 1 g/Kg diariamente, durante 28 dias consecutivos, não apresentaram encefalopatia ou nefropatia. Essas observações indicam que o efeito antiinflamatório de cineol, na dose de 400 mg/Kg, não é resultante de uma toxicidade neuronal e esses achados dão suporte ao uso industrial de cineol em preparações farmacêuticas como antitussígeno.

Três modelos agudos de testes nociceptivos foram usados para avaliar a potência analgésica de cineol, o teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético (Koster et al, 1959), formalina (Hunskaar & Hole, 1987) e placa quente (Eddy & Leimbach, 1953).

O teste da formalina é um modelo de dor aguda e tônica, sendo considerado um modelo mais válido para dor clínica do que os testes com estímulo mecânico ou térmico (Murray et al, 1988; Tjolsen et al, 1992). O teste é útil não somente para detectar drogas analgésicas, mas também para a elucidação de mecanismos de dor e analgesia. Neste modelo, a injeção subplantar de formalina na pata traseira do camundongo, elicita uma resposta comportamental bifásica. A primeira fase da resposta acredita-se representar um efeito irritante direto da formalina nas fibras C sensoriais, enquanto a resposta secundária deve-se ao desenvolvimento de uma resposta inflamatória e a liberação de mediadores

algésicos (Hunnskaar & Hole, 1987). Enquanto as drogas de ação central, como os narcóticos, podem inibir ambas as fases, as drogas de ação periférica, como as drogas antiinflamatórias não esteroidais e corticosteróides, somente inibem a fase secundária (Hunnskaar & Hole, 1987; Rosland et al, 1990; Tjolsen et al, 1992; Malmberg & Yaksh, 1993; Jett & Michelson, 1996).

Tem sido postulado que a dor periférica mediada pela formalina pode ser análoga a dor humana pós-operatória (Abbott & Franklin, 1986). Nossos dados mostram que cineol (200 e 400 mg/Kg, v.o.), exerce uma ação antinociceptiva em ambas as fases, de uma maneira similar a morfina, um agonista protótipo de receptor opióide, conhecido por sua potente ação analgésica agindo em sítios espinhais e supra espinhais (Ramabadrán & Bansinath, 1990). Os resultados demonstram a participação de um mecanismo central e periférico de ação que contribui para o efeito antinociceptivo de cineol.

A nociceção induzida por ácido acético também foi eficazmente prevenida pelo cineol. Embora a inibição das contorções abdominais induzidas por ácido acético represente uma antinociceção periférica (Wie et al, 1986), o modelo não possui especificidade, desde que uma diversidade de compostos farmacológicos, como antidepressivos tricíclicos (Takahashi & Paz, 1987), antihistamínicos (Yeh, 1986) e antihipertensivos (Pettibone & Mueller, 1981) inibem as contorções abdominais induzidas por ácido acético e mostram uma antinociceção que pode ser questionada.

O ensaio da placa quente é largamente conhecido por ser sensível somente para drogas que agem a nível supraespinhal (Yasksk & Rudy, 1977). Anker (1974) testando analgésicos análogos à morfina, em camundongos, demonstrou que a placa quente a 55 °C produzia resultados falso negativos e sugeriu o uso de temperaturas mais baixas. Por isso utilizamos a placa quente com baixa temperatura (51 ± 0,5 °C) para avaliar o efeito antinociceptivo de cineol frente ao estímulo térmico. Nas doses testadas, cineol não produziu analgesia, porém na dose de 400 mg/Kg prolongou a duração da analgesia da morfina neste modelo.

É possível que um efeito sedativo de cineol contribua para a potencialização do efeito da morfina.

O mecanismo preciso e o sítio do efeito antinociceptivo de cineol, em camundongos, não é claro. Naloxona, um conhecido antagonista da morfina (Ramabadran & Bansinath, 1990) aboliu o efeito antinociceptivo da morfina, porém não mostrou influência sobre a ação antinociceptiva de cineol. Portanto, é convincente que cineol não exerça sua atividade antinociceptiva via liberação de peptídeos opióides endógenos a nível pituitário e/ou adrenal.

O efeito antinociceptivo de cineol na segunda fase do teste da formalina pode ser secundário a uma ação antiedematogênica, desde que cineol exibiu significativa inibição do edema de pata induzido por carragenina. Contudo, ao contrário das drogas antiinflamatórias não esteroidais que exercem efeito somente na segunda fase (Hunskaar & Hole, 1987), cineol exerceu atividade em ambas as fases do teste da formalina.

A dor relacionada aos testes comportamentais utilizados para selecionar agentes potencialmente antinociceptivos pode ter algumas limitações. Por exemplo, não está claro qual extensão da sedação ou alterações nas funções motoras podem influenciar o resultado destes testes. Estudos de Rosland (1990) sugerem que a sedação pode reduzir respostas motoras coordenadas, como o ato de lamber a pata. Adicionalmente, agonistas da adenosina que produzem efeitos comportamentais, como uma inibição da atividade locomotora, mostraram possuir efeito antinociceptivo (Karlsten et al, 1992). No presente estudo, cineol não induziu atividade hipotérmica, que é capaz de modular antinocicepção, mas demonstrou potencializar o tempo de sono induzido por pentobarbital, assim como mostrou uma significativa diminuição da atividade locomotora, no teste do campo aberto, e um aumento no tempo de imobilização, no teste de suspensão da cauda. Essas observações sugerem uma clara ação depressora no Sistema Nervoso Central. Desta forma, parece ser possível que o efeito sedativo de cineol possa produzir uma aparente antinocicepção resistente a naloxona. Uma ação

pré-sináptica de cineol, como no caso da clonidina, que produz analgesia não pode ser descartada.

A liberação de adenosina pela medula espinhal pode estar envolvida com a ação antinociceptiva da morfina a nível espinhal (Sawynok & Sweeney, 1989; Keil et al, 1996; Poon & Sawynok, 1988). Teofilina, um antagonista da adenosina (Daly, 1982), mostrou diminuir a antinocicepção da morfina. Estudos de Mello (1996) mostram que a adenosina causa uma redução no número de contorções abdominais induzidas por ácido acético e no tempo gasto pelo animal lambendo a pata injetada com formalina que foi resistente a naloxona mas sensível ao bloqueio com cafeína (30 mg/Kg) ou teofilina (10 mg/Kg). Na tentativa de avaliar o papel da adenosina endógena na ação analgésica de cineol, o efeito da teofilina, sobre a nocicepção de cineol, foi testado no modelo da formalina em camundongos. Os resultados mostram que teofilina sozinha aumentou significativamente a nocicepção em ambas as fases do teste. A associação de teofilina e cineol resultou em significativa inibição não somente para o efeito nociceptivo de teofilina mas também inibiu a antinocicepção de cineol, particularmente na primeira fase do teste. Estes resultados indicam uma influência modulatória da adenosina endógena na antinocicepção de cineol. Desde que o efeito de cineol, na segunda fase, não foi alterado pela teofilina outros mecanismos podem também estar envolvidos.

Em resumo, cineol possui propriedades analgésica e sedativa, sendo efetivo oralmente. Porém, o mecanismo de ação analgésica difere da ação dos opiáceos, pois cineol é resistente a naloxona. Parte do mecanismo pode envolver a adenosina endógena e uma inibição da geração de metabólitos do ácido aracdônico, desde que cineol é capaz de exercer atividade antiinflamatória nas doses que produzem antinocicepção. Os resultados sugerem que cineol possa ser o responsável pelo efeito antinociceptivo dos óleos essenciais de *Psidium* dentre outros, citados inicialmente por Weyers & Brodbeck (1989) e Santos et al (1996).

Vários agentes químicos podem induzir convulsões, em doses tóxicas, por uma variedade de mecanismos. Compostos como o pentilenotetrazol, bicuculina, picrotoxina, estriçnina, agonistas dos receptores NMDA e kainato são comumente utilizados para selecionar potenciais agentes anticonvulsivantes e são geralmente administrados sistemicamente em camundongos e ratos para induzir convulsões (Swinyard et al, 1989; Löscher & Schmidt, 1993).

Cineol é capaz de prevenir mortes durante convulsões induzidas por pentilenotetrazol. Não é claro se cineol possui uma ação ansiolítica. A prevenção das convulsões induzidas por pentilenotetrazol, em camundongos, é o modelo mais utilizado para selecionar drogas ansiolíticas (Lippa et al, 1979). Contudo, cineol não exerceu efeito protetor contra as convulsões induzidas por estriçnina (antagonista da glicina) e pilocarpina (colinomimético) (Soaje-Echanque & Lim, 1962; Turski et al, 1984).

Na tentativa de compreender o mecanismo de proteção contra as convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) pelo cineol é necessário ir aos aspectos básicos do modelo de epilepsia induzido por PTZ e o mecanismo geral de ação das drogas antiepilépticas.

O PTZ é utilizado, em roedores, para produzir um modelo animal de epilepsia de pequeno mal e de grande mal (Swinyard, 1969; Kent & Webster, 1983; Swinyard et al, 1989), assim como para comparar a eficácia de drogas antiepilépticas (Swinyard et al, 1989). Os antiepilépticos, em geral, controlam as descargas anormais de neurônios cerebrais pelos mecanismos: (1) aumento dos processos inibitórios (primariamente mediado pelo GABA), (2) redução da transmissão excitatória (particularmente mediada pelo glutamato ou (3) modulação da condução de cátions pela membrana (Na^+ ; Ca^{+2} ou K^+) (Porter, 1993; Löscher & Schmidt, 1993). O PTZ pode inibir a glutamato desidrogenase e a aspartato aminotransferase e estimular a GABA aminotransferase em homogenatos de córtex cerebral de ratos, com uma consequente elevação de neurotransmissores excitatórios (aspartato e glutamato) e diminuição de GABA (neurotransmissor inibitório) (Lacoste et al, 1988). Portanto, PTZ potencializa a

neurotransmissão no receptor NMDA pela redução da atividade do receptor GABA_A (Wood, 1991; Morgan & Curran, 1991).

Cineol falhou em antagonizar as convulsões induzidas por picrotoxina (antagonista do GABA), indicando que o efeito protetor de cineol não é um resultado de aumento do GABA.

O óxido nítrico pode exercer papel anti e pró convulsivante em modelos experimentais de epilepsia (Del-Bel et al, 1997). Neste estudo, avaliamos a possível influência modulatória de 7-nitroindazol, um inibidor da óxido nítrico sintase neuronal (Moore et al, 1993) sobre a prevenção das mortes induzidas por PTZ pelo cineol. Os resultados mostram que 7-nitroindazol foi inefetivo em alterar o efeito protetor de cineol. Interessantemente, cineol não suprime as convulsões induzidas por pilocarpina (Turski et al, 1991) mas antagoniza os componentes tônicos das convulsões induzidas por PTZ, indicando que o efeito de cineol é dependente do modelo de convulsão empregado.

A adenosina pode agir como um anticonvulsivante endógeno (Dragunow et al, 1985; Berman et al, 1990). Os níveis de adenosina aumentam dramaticamente, dentro de segundos, após o início da convulsão (Winn et al, 1979). A adenosina se liga ao receptor A₁ pré-sináptico, e via uma proteína G inibitória (Gi), reduz a concentração de AMPc, em retorno levando a uma diminuição da liberação de aminoácidos excitatórios (Fredholm et al, 1983; Corradetti et al, 1984) que estão envolvidos na epilepsia (Dragunow, 1991). Agonistas seletivos de receptores A₁ e A_{2A} oferecem proteção contra as convulsões induzidas por PTZ (Adami et al, 1995). Contudo, agonistas da adenosina não oferecem potencial como agentes anticonvulsivantes, devido a uma variedade de efeitos periféricos, principalmente cardiovasculares associados com a ação central dessas drogas (Adami et al, 1995). Para esclarecer a participação da adenosina endógena na atividade anticonvulsivante de cineol, utilizamos cafeína, um antagonista não seletivo de receptores A₁ e A₂. Os dados mostram que o efeito anticonvulsivante de cineol não foi afetado pela cafeína. O mecanismo de ação anticonvulsivante de cineol ainda necessita ser esclarecido.

A toxicidade aguda de drogas antiepilépticas em roedores é manifestada por uma deficiência neurológica, como sedação e relaxamento muscular. Esses efeitos podem ser quantificados por observações diretas do comportamento do animal ou pelo método do “rotarod”. Drogas antiepilépticas que produzem efeito anticonvulsivante somente em doses neurotóxicas, em camundongos e ratos, são consideradas não seletivas e podem não apresentar valor clínico (Swinyard et al, 1989). Embora cineol demonstre efeito sedativo observado pela potencialização do tempo de sono induzido por pentobarbital e o tempo de imobilização no teste de suspensão da cauda, não altera a performance dos animais no modelo do “rotarod”, mostrando que cineol não apresenta neurotoxicidade.

Em conclusão, os resultados mostram uma atividade anticonvulsivante de cineol. Associado ao seu potencial antiinflamatório e antinociceptivo, após a administração sistêmica, cineol pode ser uma estratégia terapêutica útil no tratamento de epilepsia.

Os resultados claramente demonstram uma propriedade gastroprotetora de cineol. O modelo de úlcera induzida por etanol e indometacina são os modelos experimentais mais utilizados para a avaliação de atividade antiúlcera em ratos (Robert et al, 1979; Kapui et al, 1993). Comparativamente, cineol mostrou melhor inibição das lesões gástricas induzidas por etanol do que das lesões induzidas por indometacina.

Cineol nas doses de 50, 100, 200 e 400 mg/Kg produziu inibição dose dependente das lesões gástricas induzidas por etanol.

O etanol em altas concentrações causa hemorragia, hiperemia e formação de estrias no estômago. A formação de estrias resulta de uma pronunciada mudança microvascular que inicia em segundos, após a administração do etanol, uma vasoconstrição é acompanhada por uma rápida e vigorosa dilatação arteriolar. Esta combinação de eventos microcirculatórios causa uma marcada congestão dos capilares da mucosa, com uma conseqüente elevação da pressão destes capilares (Oates & Hakkinem, 1988; Glavin & Szabo, 1992). Estudos têm demonstrado que a exposição da mucosa gástrica ao etanol resulta rapidamente

em isquemia da mucosa gástrica (Itoh & Guth, 1985). Mediadores endógenos, produtos da peroxidação lipídica, aminas vasoativas e peptídeos (Szabo et al, 1985), bem como radicais livres de oxigênio (Haliweel, 1991; Al-Bekairi et al, 1992) estão envolvidos nas lesões causadas por etanol na mucosa gástrica. Ao contrário de cineol, cimetidina, um antagonista de receptor H_2 , não foi capaz de inibir as lesões gástricas induzidas por etanol. A inefetividade de cimetidina, neste modelo, está de acordo com os achados de Robert (1979) e Puurunen (1980).

As prostaglandinas (PGs), metabólitos da via da ciclooxigenase (COX), são potentes mediadores da resposta inflamatória. A partir da caracterização de duas isoformas da COX, a ciclooxigenase-1 (COX-1), constitutiva, que produz prostaglandinas capazes de proteger o estômago e o rim, e a ciclooxigenase-2 (COX-2), induzida por estímulos inflamatórios e que produz prostaglandinas participantes do processo de dor e da intensificação da inflamação (Smith & DeWitt, 1995), o desenvolvimento de novos antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) intensificou-se na pesquisa de inibidores da COX-2. Vários compostos sintetizados, que inibem preferencialmente COX-2, como nabumetona, meloxicam, nimesulide, dentre outros, que seriam desprovidos de efeitos gastrointestinais e renais, que frequentemente estão associados aos AINEs (Ford-Hutchinson, 1996), também podem induzir toxicidade gastrointestinal, particularmente quando são empregadas altas doses (Wallace et al, 1998). Contudo, o benefício da inibição preferencial de COX-2, em relação a COX-1, nos estados inflamatórios ainda não foi completamente comprovada (Gilroy et al, 1998).

A liberação de óxido nítrico (ON) é capaz de aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa gástrica e prevenir a aderência de leucócitos, sem alterar a pressão arterial sistêmica, por isso novas drogas estão sendo desenvolvidas, os Nitro-Antiinflamatórios Não Esteroidais (NO-AINEs). O ON parece exercer sua ação de forma semelhante às prostaglandinas, mantendo a integridade da mucosa gástrica (Wallace et al, 1994).

Com o intuito de avaliarmos a capacidade de cineol em inibir os danos gástricos pelos AINEs, realizamos o modelo clássico de indução de úlcera gástrica com indometacina, um inibidor não seletivo de ciclooxigenase, que age por múltiplos mecanismos, incluindo supressão de prostaglandinas, produção de leucotrienos, ação irritante local, aumento na secreção ácida gástrica e redução de fluxo sangüíneo (Vane, 1971; Dajani & Agrawal, 1995; Lanza et al, 1995; Taha et al, 1995; Wagner et al, 1995).

O papel dos leucotrienos, como mediadores da úlcera gástrica, é bem observado na aplicação local de LTC₄, que causa vasoconstrição na mucosa gástrica de ratos e pode induzir estase nas arteríolas e vênulas na submucosa (Whittle et al, 1985). As prostaglandinas (PGs) têm efeito antissecretório e gastroprotetor (Robert et al, 1979) e compostos com potencial gerador de PGs são protetores da mucosa gástrica contra vários agentes ulcerogênicos (Franzone et al, 1988; Walt, 1992; Dajani & Agrawal, 1995). O mecanismo pelo qual as PGs protegem a mucosa não foi completamente esclarecido, mas o aumento da secreção de muco e bicarbonato é uma possível explicação (Wilson et al, 1986; Smedifors & Johansson, 1986). Por outro lado, as PGs também podem aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa (Colton et al, 1978).

A indometacina aumenta a secreção basal, assim como a secreção estimulada por histamina, de íons H⁺ no homem (Levine & Schwartzel, 1984; Feldman & Colturi, 1984) mas aumenta somente a secreção basal no rato (Wagner et al., 1995). Aumenta a secreção de H⁺ estimulada por histamina em glândulas gástricas e células parietais de coelhos (Levine et al, 1991), enquanto não exerce efeito no estômago de rã (Rowe et al., 1986). A variação de ações de AINEs sobre a secreção ácida gástrica está relacionada a diferentes espécies e/ou diferenças nas variações apresentadas pelos modelos experimentais.

As espécies reativas de oxigênio são uma das causas do dano gástrico induzido pelos AINEs (Vaananen et al, 1991). A indometacina promove significativa infiltração neutrofílica na mucosa gástrica e estes são os principais responsáveis pela liberação de tais oxidantes (Wallace et al, 1990; Alican et al,

1995). Neutrófilos ativados podem contribuir para o processo ulcerativo através da liberação de proteases e espécies reativas de oxigênio que danificam a mucosa gástrica (Bozkurt et al., 1998).

O pré-tratamento com cineol na dose oral de 400 mg/Kg produziu uma proteção contra as lesões gástricas induzidas por indometacina de maneira similar a cimetidina (100 mg/Kg, v.o.).

A avaliação experimental com ratos, com piloro ligado, mostra que cineol (200 e 400 mg/Kg) reduziu o volume secretório ácido assim como a acidez estomacal total. Adicionalmente, cineol aumentou o muco da mucosa gástrica e reduziu a velocidade de esvaziamento gástrico. Estes achados indicam um possível envolvimento da estimulação de prostaglandinas ou uma inibição de leucotrienos no efeito citoprotetor/antiúlcera de cineol. Alternativamente, cineol pode estar agindo através da inibição da estimulação vagal ou pela ativação de receptores inibitórios da adenosina na região fúndica gástrica (Scarpignato et al, 1987; Puurunen & Huttunen, 1988). A inibição da atividade vagal pode também explicar o retardo do esvaziamento gástrico após a administração de cineol. A inibição de óxido nítrico sintase ou estimulação da colecistoquinina-octapeptídeo (CCK8) nas fibras vagais gástricas leva ao retardo no esvaziamento gástrico em ratos (Plourde et al, 1994; Richards et al, 1996). Entretanto, L-NAME, um inibidor da ON sintase constitutiva, não foi capaz de reverter o efeito de cineol neste estudo.

Estudos de Bozkurt et al (1988) e Cho & Ogle (1990) mostram que a administração de adenosina exógena exerce um efeito protetor sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina e etanol. Estes autores observaram que o aumento no volume do suco gástrico e da acidez em animais com piloro ligado, tratados com indometacina, pode ser revertido pelo pré-tratamento com adenosina. Um possível envolvimento da adenosina endógena na gastroproteção de cineol foi verificado utilizando agonistas e antagonistas da adenosina. Os resultados mostram que CPA (1 mg/Kg), agonista de receptor A_1 , promoveu potencialização, NECA (0,1 mg/Kg), um agonista não seletivo de receptores A_1 e

A₂, e 8-fenilteofilina (8 mg/Kg), antagonista não seletivo de receptores A₁ e A₂, não exerceram influência significativa sobre a lesão gástrica induzida por etanol. Adicionalmente, 8-fenilteofilina não alterou o efeito gastroprotetor do cineol.

Esses achados indicam que os adenoceptores A₁ e A₂ não participam no efeito gastroprotetor de adenosina exógena. Recentes evidências implicam que o adenoceptor A₃, acoplado a fosfolipase C, oferece citoproteção por estimular a produção de enzimas antioxidantes (Ramakumar et al, 1995). Para a comprovação da participação do receptor da adenosina A₃ no efeito gastroprotetor de cineol outros ensaios necessitam ser realizados.

Em conclusão, cineol parece ser um promissor agente gastroprotetor no combate as lesões gástricas induzidas por agentes necrotizantes e por antiinflamatórios não esteroidais.

Cineol reduziu de forma significativa o efeito secretório intestinal induzido pela toxina da cólera.

A toxina da cólera possui duas subunidades, a subunidade A ativa que está ligada covalentemente a cinco subunidades B, que são essenciais para a ligação ao receptor, gangliosídeo GMI nos enterócitos. Após ligação, a subunidade A é internalizada e através de uma complexa cascata de eventos que envolve a ADP-ribosilação, da subunidade alfa, da proteína de ligação ao GTP, Gs, que é responsável pela estimulação da atividade da adenilato ciclase. Após a ADP-ribosilação desta proteína (Gs), ocorre estimulação da atividade da adenilato ciclase de maneira não reversível. O resultado é um aumento dramático nos níveis de AMPc intracelular que é o responsável pela secreção de cloro e associada perda de sódio e água (Field et al, 1972; Kaper et al, 1995). A toxina da cólera também estimula a secreção intestinal por outros mecanismos como a estimulação da citocina pró-inflamatória IL-6 (McGee et al, 1993), serotonina e VIP (Nilson et al, 1983) e pela promoção da permeabilidade intestinal (Triadafilopoulos et al, 1989).

No estudos anterior, cineol atenuou a secreção gástrica ácida em ratos. Essa observação associada ao fato que cineol é capaz de inibir a da secreção intestinal induzida pela toxina da cólera, indicam que cineol possui uma atividade antissecretória.

A ativação de mastócitos e neurônios intestinais exercem um papel significativo nos efeitos da toxina da cólera em ratos. Desde que a adenosina pode exercer um número de efeitos antiinflamatórios pela ativação de receptores da adenosina A_2 (Cronstein, 1995; Rosengren et al, 1995) e uma influência modulatória sobre a degranulação de mastócitos e atividade neuronal (Sawynok et al. 1997; Fredholm et al, 1993), avaliamos o efeito de 8-fenilteofilina, um antagonista não seletivo de receptores da adenosina A_1 e A_2 , sobre a supressão, pelo cineol, da acumulação de fluido intestinal induzida pela toxina da cólera. Os resultados demonstram nenhuma influência significativa na secreção intestinal induzida pela toxina da cólera.

Os resultados indicam que cineol exerce um efeito protetor contra a hepatotoxicidade induzida pela administração de D-Galactosamina e Lipopolissacarídeo (GalN/LPS). Foi sugerido que o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) exerce um papel chave na injúria hepática induzida por GalN/LPS, que é caracterizada por apoptose e subsequente lise da célula hepática (Freudenberg et al, 1986; Dinerello, 1991; Leirst et al, 1995; Morikawa et al, 1998). A administração de GalN/LPS promoveu choque letal e intensa necrose hepática em todos os animais do grupo controle, enquanto nos animais tratados com cineol (400mg/Kg, v.o.) e dexametasona (1 mg/Kg, s.c.) foi observada completa proteção contra a morte. Adicionalmente, ambos os agentes suprimiram o aumento do peso hepático induzido por GalN/LPS, assim como alterações histológicas, como necrose e hemorragia. Contudo, não foi observada alterações nos níveis das transaminases séricas ou nas concentrações de malonaldeído hepático nos grupos tratados com GalN/LPS, cineol ou dexametasona. A falência hepática induzida por GalN/LPS envolve o TNF- α , que contribui para a apoptose e consequentemente para a necrose. A ausência de detecção de

alterações nos níveis de transaminases pode se dever ao período de coleta do sangue (isto é, 2h após a administração de GalN/LPS).

Os dois principais fatores transcripcionais responsáveis pelos efeitos de TNF- α e Interleucina-1 (IL-1) são o fator nuclear Kappa B (NF-KB) e “activating protein 1” (AP-1). Estes fatores induzem várias proteínas envolvidas nos processos inflamatórios e imunes, como citocinas, moléculas de adesão, fatores de crescimento, metaloproteinases e outras proteínas que participam da produção de prostaglandinas, leucotrienos e óxido nítrico (Baldwin, 1996). Glicocorticóides e dexametasona, potentes antiinflamatórios, podem inibir o NF-KB e AP-1 (Scheinmann et al, 1995). Ainda não foi demonstrado se cineol age de maneira similar.

Em comparação a dexametasona e cineol, L-NAME, um inibidor da óxido nítrico sintase (ONS) constitutiva (Moncada et al, 1991), ofereceu somente proteção parcial da morte. Aminoguanidina, um inibidor da ONS induzida (Cobett et al, 1992) preveniu completamente a mortalidade associada com GalN/LPS, indicando a participação desta enzima no dano hepático.

Para avaliar a participação do óxido nítrico (ON) no efeito protetor de cineol, testamos a influência da L-arginina, substrato para a síntese de ON, e nitroprussiato de sódio, um doador de ON, sobre o efeito de cineol. Os resultados demonstraram que esses agentes não foram capazes de bloquear o efeito de cineol, sugerindo a não participação do ON no mecanismo de ação de cineol.

Cineol exerce efeito inibitório sobre a produção de TNF- α , IL-1 β , LTB₄ e TXB₂ por monócitos estimulados com LPS e IL-1 β *in vitro* (Juergens et al, 1998). Esta propriedade do cineol pode ser responsável pelo efeito protetor contra a toxicidade de GalN/LPS *in vivo*. O exato mecanismo de ação do cineol não é claro, contudo, cineol pode oferecer uma nova estratégia terapêutica para combater a toxicidade hepática e outras patologias associadas ao choque séptico.

Cineol foi utilizado nas doses de 200 e 400 mg/Kg para avaliar sua toxicidade na reprodução de ratos.

Nestas doses, cineol é capaz de produzir efeito antiinflamatório, antinociceptivo, antiulcerogênico, antissecretório e anticonvulsivante *in vivo*.

Os animais que receberam cineol nas doses de 200 e 400 mg/Kg, nos dias 1 a 7 e de 8 a 15 da gravidez, não sofreram alteração significativa no peso corpóreo quando comparados aos animais controle.

Cineol, nas doses utilizadas, não alterou o ciclo estral dos ratos, mostrando não interferir na ovulação. Contudo, o índice de gravidez e o peso dos fetos foi reduzido em animais que receberam cineol (200 e 400 mg/Kg, v.o.), nos dias 1 a 7 da gravidez. O tratamento com cineol, nos dias 8 a 15 da gravidez, não alterou o índice de gravidez e o peso dos fetos. Possivelmente cineol, por sua ação antiinflamatória, possa prejudicar a reação decidual e conseqüentemente, o processo de nidação. Alguns autores relatam que o sucesso da implantação do ovo fertilizado no útero requer alterações locais que são comuns aos processos inflamatórios. Por essa razão, o uso de agentes durante o período de periimplantação pode prejudicar a fertilidade, provavelmente pela redução da permeabilidade vascular, que é um acontecimento obrigatório na implantação do blastocisto (Psychoyos, 1960).

7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

Os dados obtidos da presente investigação com cineol nos permite concluir:

- ☞ Cineol, o monoterpeneo presente em vários óleos essenciais de plantas, exhibe baixo potencial tóxico. Sua DL_{50} , por via oral, foi de $3,85 \pm 0,33$ g/Kg. Contudo, manifestou discreta sedação com a dose de 400 mg/Kg, via oral, mas não evocou ataxia ou incoordenação motora, indicando ausência de toxicidade neuronal.
- ☞ Cineol demonstrou atividade pró-inflamatória e pró-nociceptiva local. Nestas ações os mastócitos e a adenosina exercem um papel chave. A indução de edema, na pata traseira de rato, pelo cineol pode servir como um modelo animal para selecionar compostos com potencial atividade antianafiláctica e antiinflamatória.
- ☞ Em contraste à aplicação local, a administração sistêmica de cineol exerce efeito antiinflamatório e antinociceptivo. Em modelos animais, este composto não apenas inibe o edema inflamatório agudo e a permeabilidade vascular, mas também suprime a formação de tecido de granulação induzida por irritante físico, onde as prostaglandinas desempenham um papel essencial.
- ☞ Cineol parece possuir propriedades sedativa e anticonvulsivante. Ele potencializou o tempo de sono induzido por pentobarbital e preveniu convulsões em modelos de epilepsia por pentilenotetrazol. A adenosina endógena parece não participar nesta ação protetora contra as convulsões por pentilenotetrazol.

- ☞ Cineol exerceu função gastroprotetora. Reduziu efetivamente o efeito necrotizante do álcool e os danos gástricos induzidos pela indometacina. A redução da acidez gástrica e o aumento do muco gástrico observados após o tratamento com cineol podem em parte, explicar a sua propriedade gastroprotetora. É improvável a participação da adenosina endógena ou do óxido nítrico nesta ação.
- ☞ O efeito antissecreatório do cineol foi evidenciado no modelo de secreção gástrica induzida pela ligação pilórica e no modelo de acumulação de fluido intestinal induzida pela toxina da cólera. O efeito do cineol pode ter implicações terapêuticas no tratamento da úlcera gástrica e diarreia.
- ☞ Cineol oferece proteção contra a hepatite tóxica induzida pela administração de D-Galactosamina/Lipopolissacarídeo em camundongos. Neste modelo, cineol mostrou potência similar a àquela mostrada por dexametasona. Dentre os possíveis mecanismos envolvidos na ação antihepatotóxica de cineol, inclui a sua capacidade de inibir citocina inflamatórias.
- ☞ Cineol não demonstrou efeitos adversos na reprodução em ratos fêmeas. Ele não alterou o ciclo estral. Contudo, animais tratados nos dias 1 a 7, mas não nos dias 8 a 15, da gravidez, mostraram redução do índice de gravidez e do peso dos fetos, possivelmente devido a sua ação antiinflamatória.
- ☞ Os efeitos analgésico, sedativo e anticonvulsivante de cineol correlacionam-se com as atividades farmacológicas dos óleos essenciais de *Psidium guyanensis* e *Psidium pohlianum*, cujo principal constituinte é o cineol.

*8. REĢERĒNCIŅAS
BIBLIJOGRAFĪŠĀS*

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, F. & PALMOUR, M. Morphine-6-glucuronide: analgesic effects and receptor binding profile in rats. *Life Sci.*, v. 43, p. 1685-1695, 1988.
- ABBOTT, F.V., FRANKLIN, K.B.J. Noncompetitive antagonism of morphine analgesia by diazepam in the formalin test. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 24, p. 319-321, 1986.
- ABE, A., KARAKI, H. Effect of forskolin on cytosolic Ca^{++} level and contraction in vascular smooth muscle. *Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 249, p. 895-900, 1989.
- ADAMI, M., BERTORELLI, R., FERRI, N. et al. Effects of repeated administration of selective adenosine A_1 and A_{2A} receptor agonists on pentylentetrazole - induced convulsions in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 294, p. 383-389, 1995.
- AL-BEKAIRI, A.M., QUERESHI, S., AHMED, M.M., AFZAL, M., SHAH, A.H. A study of uric acid pretreatment for the protection of rat gastric mucosal against toxic damage. *Food and Chemical Toxicology*, v. 30, p. 525-531, 1992.
- ALICAN, I., COSKUN, T., CORAK, A., YEGEN, B.C., OKTAY, S., KURTEL, H. Role of neutrophils in indomethacin-induced gastric mucosal lesions. *Inflamm. Res.*, v. 44, p. 164-168, 1995.
- ALICAN, I. Adenosine protects against indomethacin-induced gastric damage in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 43, p. 1258-1263, 1998.
- ALMEIDA, A., SERTIÉ, J.A.A., HANADA, G. et al. Modulação da atividade linfocitária pelo óleo de Copaíba (Leguminosae, Mimosaceae). In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE), 10, 1995, Serra Negra. *Resumos...* Serra Negra: FESBE, 1995.

- ALMIRALL, M., MONCADA, J., ESCRIBANO, E., OBACH, R., BERROZPE, J.D. Effect of d-limonene, alpha-pinene and cineole on *in vitro* transdermal human skin penetration of chlorpromazine and haloperidol. *Arzneimittelforschung*, v. 46, p. 679-680, 1996.
- ANKIER, S.J. New hot plate tests to qualify antinociceptive and narcotic antagonists activities. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 27, p. 1-4, 1974.
- ANSARI, S.H., ALI, M., SIDDIQUI, A.A. Evaluation of chemical constituents and trade potential of *Cymbopogon citratus* (Lemongrass). *Hamdard Medicus*, v. 39, p. 55-59, 1996.
- ANTONIO, M.A., NOGUEIRA, D.C.F., DIAS, P.C. et al. Atividade antiulcerogênica das frações obtidas do óleo essencial de *Vanillosmopsis erytropappa*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, 1996, Florianópolis. *Programa e Resumos...* Florianópolis: UFSC, 1996.
- APPENDINO, G., SZALLASI, A. Euphorbuin, modern research on its active principle, resiniferatoxin, revises an ancient medicine. *Life Sci.*, v. 60, p. 681-696, 1997.
- ATKINSON, D.C., HICKS, R. Relationship between the anti-inflammatory and irritant properties of inflammatory exsudate. *Brit. J. Pharmacol.*, v. 76, p. 185-194, 1982.
- BALDWIN, A.S. Jr. The NF-Kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu. Ver. Immunol.*, v. 14, p. 649-683, 1996.
- BALINT, G.A. A possible molecular basis for the effect of gastric anti-ulcerogenic drugs. *TIPS*, v. 19, p. 401-403, 1998.
- BANKS, B.E.C., DEMPSEY, C.L., VERNON, C.A. & YANNEY, J. The mast cell degranulating peptide from the bee venom. *J. Physiol.*, v. 308, p. 95-96, 1980.
- BAREL, S., SEGAL, R., YASHPHE, J. The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *J. Ethnopharmacol.*, v. 33, p. 187-191, 1991.

- BARONE, M., AZZARONE, A., ANGELINE, A., ZAMPARELLA, M., DELLAQUILA, P., FRANCAVILLA, A. Effect of epomediolon taurocholate uptake in hepatocytes isolated from normal rats with ethinylestradiol-induced cholestasis. **Pharmacol. Toxicol.** v. 72, p. 262-269, 1983.
- BARTHO, L. & HOLZER, P. Search for a physiologic role of substance P in gastrointestinal motility. **Neuroscience**, v. 16, p. 1-32, 1985.
- BEAL, J.E., OLSON, R., LAUBENSTEIN, L. et al. Dronabinol as a treatment for anorexia associated with weight loss in patients with AIDS. **J. Pain Symptom Manage.**, v. 10, p. 89-97, 1995.
- BEAVEN, M.A. Histamine: Its role in physiological and pathological processes. **Monog. All.**, v. 13, p. 1-113, 1978.
- BECK, P.W., HANDWERKER, H.O. Bradykinin and serotonin effects on various types of cutaneous nerve fibers. **Pflugers Arch.**, v. 347, p. 209-222, 1974.
- BEFUS, D., FUJIMAKI, H., LEE, T.D.G., SWIETER, M. Mast cell polymorphisms: Present conceptus, future directions. **Dig. Dis. Sci.**, v. 33, p. 16S-24S, 1988.
- BENDITT, E.P., BADER, S., LAM, K.B. Studies of the mechanism of acute vascular reactions to injury. 1. The relationship of mast cells and histamine to the productions of edema by ovomucoid in rats. **Arch.Pathol.**, v. 60, p. 104-115, 1955.
- BERMAN, R.F., JARVIS, M.F., LUPICA, C.R. Adenosine involved in kindled seizures. In: WADA, J.A. **Kindling**. New York: Plenum Press, 1990. V. 4, p. 423.
- BERRIDGE, M.J. Inositol triphosphate and diacylglycerol: two interacting second messengers. **Annu Rev. Biochem.**, v. 56, p. 159-193, 1987.
- BHAT, S.V., BAJWA, B.S., DORNAUR, H., DE SOUZA, N.J., FEHLHABER, H.W. Structure and stereo-chemistry of new labdane diterpenoids from *Coleus forskohlii*. **Briq. Tetrahedrom. Lett.**, v. 19, p. 1669-1672, 1977.

- BHATTACHARYA, B.K., DADKAR, N.K., DOHADWALLA, A.N.
Vascular reactivity of perfused vascular bed in spontaneously hypertensive and normotensive rats. **B. J. Pharmac.**, v. 59, p. 243-246, 1977.
- BIENENSTOCK, J., BEFUS, A.D., PEARCE, F., DENBURG, J., GOODACRE, R. Mast cell heterogeneity: Derivation and function with emphasis on the intestine. **J., Allergy Clin. Immunol.**, v. 70, p. 407-412, 1982.
- BOROS, D.L. Granulomatous inflammations. **Prog. Allergy**, v. 24, p. 183-267, 1978.
- BOZKURT, A., YÜKSEL, M., HAKLAR, G., KURTEL, H., YEGEN, B., ALICAN, I. Adenosine protects against indomethacin-induced gastric damage in rats. **Dig. Dis. Sci.**, v. 43, p. 1258-1263, 1998.
- BRANSKI, D. et al. **Scand. J. Gastroenterology**, v. 19, p. 457-460, 1984.
- BRUNS, R.F., LU, G.H. & PUGSELY, T.A. Characterization of the A₂ adenosine receptor labelled by [³H] NECA in rat striated membranes. **Mol. Pharmacol.**, v. 29, p. 331-346, 1986.
- BRUNS, R.F., FERGUS, J.H., BADGER, E.W., BRISTOL, J.A., SANTAY, L.A., HARTMAN, J.D., HAYS, S.J., HUANG, C.C. Binding of the A₁-selective adenosine antagonist 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine to rat brain membranes. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, v. 335, p. 59-63, 1987.
- BUCHBAUER, G., JIROVETZ, L., JAGER, W. et al. Aromatherapy: evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation. **Z. Naturforsch.**, v. 46, p. 1067-1072, 1991.
- BURNSTOCK, G. A basis for distinguishing two types of purinergic receptor. In: STRAUB, R.W., BOLIS, L. **Cell membrane receptor for drugs and hormones: A multidisciplinary approach**. New York: Raven Press, 1978. p. 107-118.
- BUTCHER, S.P., HAGBERG, H., SANDBERG, M., HAMBERGER, M. **Neurochem. Int.**, v. 11, p. 95-99, 1989.

- CAPAZ, F.R., VANCONCELLOS, L.E.M., DE MORAES, S. et al. The Open-Field: a simple method to show ethanol withdrawal symptoms. **Arch. Int. Pharmacodyn.**, v. 251, p. 228-236, 1981.
- CARSON, C.F., RILEY, T.V. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 78, p. 264-269, 1995.
- CARSON, C.F., COOKSON, B.D., FARRELLY, H.D. et al. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 35, p. 421-424, 1995.
- CARVALHO, J.C.T., SILVA, M.F.C., MACIEL, M.A.M., PINTO, A.C., NUNES, D.S., LIMA, R.M., BASTOS, J.K., SARTIR, S.J. Investigation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of trans-dehydrocrotonin, a 19-nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara*. **Planta Med.**, v. 62, p. 402-404, 1996.
- CASALE, T.B., BOWMAN, S., KALINER, M. Inductions of human cutaneous mast cell degranulation by opiates and endogenous opioid peptides: Evidence for opiate and non-opiate receptor participation. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 73, p. 775-780, 1984.
- CASALE, T.B., KEAHEY, T.M., KALINER, M. Exercise-induced anaphylactic syndromes. **JAMA**, v. 225, p. 2049-2053, 1986.
- CAVANAUGH, D.K., CASALE, T.B. Histamine receptor mediated effects. In: The mast cell in health and disease. KALINER, M.A. and METCALFE, D.D. New York: Dekker, p. 326-331, 1993.
- CHAPMAN, C.R., CASEY, K.L., DUBNER, R., FOLEY, K.M., GRACELY, R.H. & READING, A.E. Pain measurement: an overview. **Pain**, v. 22, p. 1-31, 1985.
- CHO, C.H., OGLE, C.W. Modulatory action of adenosine on gastric function and ethanol-induced mucosal damage in rats. **Dig. Dis. Sci.**, v. 35, p. 1334-1339, 1990.

- CHO, C.H., LIAO, N.X., LIU, X.G., HUI, W.M., LUK, C.T., LAM, S.K.
Effects of adenosine on gastric and cardiovascular systems, and ethanol ulceration in lame and female rats. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 201, p. 157-162, 1991.
- CHOPRA, R.N., CHOPRA, I.C., HANDA, K.L. et al. **Indigenous Drugs of India**. 2 th. ed. New Delhi: Academic Publishers, 1982. p. 611-641.
- CHURCH, M.K., HUGHES, P.J., VARDEY, C.J. Studies on the receptor mediating cyclic AMP-independent enhancement by adenosine IgE-dependent mediator release from rat mast cells. **Br. J. Pharmacol.**, v. 87, p. 233-242, 1986.
- CHURCH, M.K., POLOSA, R., RIMMER, S.J. Cromolyn sodium and nedocromil sodium: mast cell stabilizers, neuromodulators or anti-inflammatory drugs. In: ASTHMA, M.A. KALINER, P.J. BARNES, C.G. PERSSON. New York: Dekker 1991, p. 561-593.
- COCHRANE, C.G., MULLER-EBERHARD, H.J. The derivation of the two distinct anaphylatoxin activities from the third and fifth components of human complement. **J.Exp.Med.**, v. 125, p. 371-377, 1968.
- COELHO-DE-SOUZA, G.P., GAIESKI, F., ELISABETSKY, E. Avaliação da atividade anticonvulsivante de lactonas do óleo essencial de *Aeollanthus suaveolens*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, 1996a, Florianópolis. **Programa e Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1996.
- COELHO-DE-SOUZA, G.P., GAIESKI, F., ELISABETSKY, E. Estudo preliminar da atividade sedativa do óleo essencial de *Cunila galioides* Benth. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, 1996b, Florianópolis. **Programa e Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1996.
- CONRAD, D.H., BAZIN, H., SEHON, A.H., FROESE, A. Binding parameters of the interaction between rat IgE and rat mast cell receptors. **J. Immunol.**, v. 114, p. 1688-1691, 1975.
- COLLIS, M.G., HOURANI, S.M.O. Adenosine receptor subtypes. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 14, p. 360-366, 1993.

- COLTON, D.G., DRISKILL, D.R., PHILLIPS, E.L., POY, P., DAJANI, E.Z.
Effect of SC-29333, an inhibitor of gastric secretion, on canine gastric mucosal blood flow and serum gastrin levels. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.**, v. 236, p. 86-95, 1978.
- CORBETT, J.A., TILTON, R.A., CHANG, K., HASAN, K.S., IDO, Y., WANG, J.L., SWEETLAND, M., LANCASTER, J.R., WILLIAMSON, J.R., McDANIEL, M.L. Aminoguanidine, a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. **Diabetes**, v. 41, p. 552-556, 1992.
- CORNE, S.J., MORRISSEY, S.M., WOODS, R.J. A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. **J. Physiol.**, v. 242, p. 116-117, 1974.
- CORRADETTI, R., LO CONTE, G., MORONI, F., PASSANI, M.B., PEPEU, G. Adenosine decreases aspartate and glutamate release from rat hippocampal slices. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 104, p. 19-26, 1984.
- COX, J.S.G. Disodium cromoglycate (FPL 670)(Intal): a specific inhibitor of reagenic antibody-antigen mechanisms. **Nature**, v. 216, p. 1328-1329, 1967.
- CRAGG, G.M., NEWMAN, D.J., SNADER, K.M. Natural products in drug discovery and development. **J. Nat. Prod.**, v. 60, p. 52-60, 1997.
- CRAIG, J.O. Poisoning by the volatile oils in childhood. **Arch. Dis. Child.**, v. 28, p. 475-483, 1953.
- CRAVEIRO, A.A., FERNANDES, A.G., ANDRADE, C.H.S. et al. **Óleos essenciais de Plantas do Nordeste**. Fortaleza: Edições U.F.C., 1981. 210p.
- CRONSTEIN, B.N. Adenosine, an endogenous anti-inflammatory agent. **J. Appl. Physiol.**, v. 76, p. 5-13, 1994.
- CRONSTEIN, B.N. A novel approach to the development of anti-inflammatory agents: adenosine released at inflammatory sites. **J. Invest. Med.**, v. 43, p. 50-57, 1995.

- CRUZ, T., CABO, M.M., JIMENEZ, J. et al. Composition and pharmacological activity of the essential oil of *Satureja obovata*. II. Spasmolytic activity. **Fitoterapia**, v. 61, p. 247-251, 1990.
- DAJANI, E.Z., AGRAWAL, N.M. Prevention and treatment of ulcers induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. An update. **J. Physiol. Pharmacol.**, v. 46, p. 16, 1995.
- DALY, J.W. Adenosine receptors: Targets for future drugs. **J. Med. Chem.**, v. 25, p. 197-207, 1982.
- DALY, J. W. Adenosine receptors: Targents for future drugs. **J. Med. Chem.**, v. 25, p. 197-207, 1982.
- DAMAS, J., LIÉGEOIS, J.F., BOURDON, V. Involvement of 5-hydroxytryptamine and bradykinin in the hyperalgesia induced in rats by collagenase from *Clostridium histolyticum*. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, v. 355, p. 566-570, 1997.
- DANDIYA, P. C., COLLUMBINE, H. Studies on *Acorus calamus*: pharmacological actions fo essencial oil. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 125, p. 353-359, 1959.
- DANIELA, T. *Salvia officinalis* I. Botanic characteristics, composition, use and cultivation. **Cesk. Farm.**, v. 42, p. 11-116, 1993.
- DAVAL, J.L., NEHLIG, A., NICOLAS, F. Phisiological and Pharmacological Properties of adenosine: therapeutic implications. **Life. Sci.**, v. 49, p. 1435-1453, 1991.
- DEL-BEL, E.A., OLIVEIRA, P.R., OLIVEIRA, J.A.C., MISHRA, P.K., JOBE, P.C., GARCIA-CARRASCO, N. Anticonvulsant and proconvulsant roles of nitric oxide in experimental epilepsy models. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 30, p. 971-979, 1997.
- DELLA LOGGIA, A., TUBARO, A., DRI, P., ZILLA, C., DEL NEGRO, P. - The role of flavonoids in the anti-inflammatory activity of *Chamomilla recutita*. **Clin. Biol. Res.**, v. 231, p. 481-488, 1986.

- DE VINCENZI, M., MANCINI, E., DESSI, M.R. Monographs on botanical flavouring substances used in foods. Part V. **Fitoterapia**, v. 67, p. 241-151, 1996.
- DICKENSON, A.H., NMDA receptor antagonists as analgesics. In: FIELDS, H.L., LIEBESKIND, J.C. **Progress in Pain Research and Management**. Seattle: WA, 1994. v. 1, p. 173-187.
- DIMITRIADOU, V., BUZZI, M.G., MOSKOWITZ, M.A., THEOHARIDES, T.C. Trigeminal sensory fiber stimulation induces morphological changes reflecting secretion in rat dura mater mast cells. **Neuroscience**, v. 44, p. 97-112, 1991.
- DINARELLO, C.A. The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumour necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome. **J. Infect. Dis.**, v. 63, p. 1177-1184, 1991.
- DI ROSA, M., GIROUD, J.P., WILLOUGHBY, C.A. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. **J. Path.**, v. 104, p. 15-28, 1971.
- DI ROSA, M. & WILLOUGHBY, D.A. - Screens for anti-inflammatory drugs. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 23, p. 297-298, 1971.
- DI SATASI, L.C. **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência**, Ed. UNESP, 1995, p. 120-124.
- DJAHANGUIRI, B. The production of acute ulceration by indomethacin in the rat. **Scand. J. Gastroent.**, v. 4, p. 265-267, 1969.
- DOAK, G.J., SAWYNOK, J. Complex role of peripheral adenosine in the genesis of the response to subcutaneous formalin in the rat. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 281, p. 311-318, 1995.
- DOAK, G.J., SAWYNOK, J. Formalin-induced nociceptive behavior and edema: Involvement of multiple peripheral 5-hydroxytryptamine receptor subtypes. **Neuroscience**, v. 80, p. 939-949, 1997.
- DRAGUNOW, M., GODDARD, G.V., LAVERTY, R. Is adenosine an endogenous anticonvulsant?. **Epilepsia**, v. 26, p. 480, 1985.

- DRAGUNOW, M. Adenosine and epileptic seizures. In: Adenosine and adenine nucleotides as regulators of cellular function. **J. W. Phillis**. (CRC Press, Boca Raton), p. 367, 1991.
- DUBEY, M.P., SRIMAL, R.C., PATNAIK, G.K., DHAWAN, B.N. Hypotheseive and spasmolytic activities of coleonol, active principle of *Coleus forskohlii* . **Briq. Indian Journal of Phamacology**, p. 6-15, 1974.
- DUNHAM, N.W., MIYA, T.S. A note on a simple apparatus for detecting neurologic deficit in rats and mice. **J. Am. Pharm. Sci. Ed.**, v. 46, p. 208-209, 1957.
- EDDY, N.B., LEIMBACH, D.J. Synthetic analgesics. lidithienyl - butenyl and dithienylbutylamines. **J. Pharmac. Exp. Ther.**, v. 107, p. 385-93, 1953.
- EDER, J. Tumour necrosis factor α and interleukin 1 signalling: do MAPKK kinases connect it all?. **TiPS**, v.. 18, p. 319-322, 1997.
- ELIZABETH, K., RAO, M.N.A. Oxygen radical scavenging activity of Curcumin. **Int. J. Pharm.**, v. 58, p. 238-240, 1990.
- ENERBÄCK, L., OLSSON, Y., SOURANDER, P. Mast cells in normal and sectioned peripheral nerves. **Z. Zellforsch.**, v. 66, p. 596-608, 1965.
- ENERBÄCK, L. Mast cells heterogeneity: the evolution of the concept of a specific mucosal mast cell. In: Mast cell differentiation and Heterogeneity. A.D. BEFUS, A.D., BIENENSTOCK, J., DENBURG, J.A., New York: Raven. 1986, P.I.
- FARNSWORTH, N.R., AKERELE, O., BINGEL, A.S. Medicinal plants in therapy. **Bull WHO**, v. 63, p. 965-981, 1985.
- FELDMAN, M., COLTURI, T.J. Effect of indomethacin on gastric acid and bicarbonate secretion in humans. **Gastroenterology**, v. 87, p. 1339-1343, 1984.
- FERRANDIZ, J.R. & ALCARAZ, M.J. Anti-inflammatory activity of arachidonic acid by flavonoids. **Agents Actions**, v. 32, p. 283-288, 1991.

- FIELD, M., FROMM, D., AL-AWOUATI, Q., GREENOUGH, W.B. Effect of cholera enterotoxin on ion transport across isolated ileal mucosa. **J. Clin. Invest.**, v. 51, p. 796, 804, 1972.
- FJELLNER, B., HAGERMARK, O.I. Studies on pruritogenic and histamine release effects of some putative peptide neurotransmitters. **Acta Derm. Venerese.**, v. 61, p. 245-248, 1981.
- FOCK, S., MENSE, S. Excitatory effects of 5-hydroxytryptamine, histamine and potassium ions on muscular group IV afferent units: a comparison with bradykinin. **Brain Res.**, v. 105, p. 459-469, 1976.
- FORD-HUTCHINSON. New highly selective cyclooxygenase-2 inhibitors. In: Bazan, C., Botting, J., Vane, J., ed. *New targets in inflammation. Inhibitors of COX-2 adhesion molecules*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 55-62, 1996.
- FOREMAN, J.C., MONGAR, J.L., GOMPERTS, B.D., GARLAND, L.G. A possible role for cyclic AMP in the regulation of histamine secretion and the action of cromoglycate. **Biochem. Pharmacol.**, v. 24, p. 538-540, 1975.
- FOREMAN, J.C., PIOTRWOSKI, W. Some effects of substance P antagonists on mast cells. In: HUKANSON, R., SUNDLER, R. **Tachykinin Antagonists on Mast cells**. Amsterdam: Elsevier, 1985. p. 405-412.
- FOREMAN, J.C. Substance P and calcitonin gene-related peptide: Effects on mast cell and human skin. **Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.**, v. 82, p. 366-371, 1987.
- FOREMAN, J.C., JORDAN, C.C., OEHMA, P., RENNER, H. Structure-activity relationship for some substance P-related peptides that cause wheal and flare reactions in human skin. **J. Physiol.**, v. 335, p. 449-465, 1983.
- FOREMAN, J.C., MONGAR, J.L., GOMPERTS, B.D. Calcium ionophores and movement of calcium ions following the physiological stimulus to a secretory process. **Nature**, v. 245, p. 249-251, 1973.

- FOZARD, J.R., PFANNKUCHE, H.J., SCHUURMAN, H.J. Mast cell degranulation following adenosine A₃ receptor activation in rats. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 298, p. 293-297, 1996.
- FRANZONE, J.S., CIRILLO, R., CRAVANZOLA, C. Cytoprotective activity of deboxamet: a possible interference with prostaglandin and prostacyclin metabolism in rat gastric mucosa. **Int. J. Tissue React.**, v. 10, p. 149-158, 1988.
- FREDHOLM, B.B., ABBRACCHIO, M.P., BURNSTOCK, G., DALY, J.W., HARDEN, T.K., JACOBSON, K.A., LEFF, P., WILLIAMS, M. Nomenclature and classification of Purinoceptors. **Pharmacol. Rev.**, v. 46, p. 143-156, 1994.
- FREDHOLM, B.B., DUNWIDDIE, T.V. How does adenosine inhibit transmitt release? **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 9, p. 130-134, 1988.
- FREDHOLM, B.B., GUSTAFSSON, L.E., HEDQUIST, P., SOLLEVI, A. Adenosine in the regulation of neurotransmitter release in the peipheral nervous sistem. In: BERNE, R.M., RALL, T. W., RUBIO, R., *Regulatory funcions of adenosine*. Martinus Nijhoff, Boston., 1983, p. 479-493.
- FREDHOLM, B.B., JOHANSSON, B., VAN DER PLOEG, I., HU, P.S., JIN, S. Neuromodulatory roles of purines. **Drug. Dev. Res.**, v. 28, p. 349-353, 1993.
- FREISE, F.W. Essential oils from Brazilian Euphorbiaceae. **Perfum. Essent. Oil Rec.**, v. 26, p. 219, 1935.
- FREUDENBERG, M.A., KEPPLER, D., GALANOS, C. Requirement for lipopolysaccharide-responsive macrophages in galactosamine-induced sensitization to endotoxin. **Infect. Immun.**, v. 51, p. 891-895, 1986.
- FULLER, R.W., CONRADSON, T.B., DIXON, C.M.S., CROSSMAN, D.C. BARNES, P.J. Sensory neuropeptide effects in human skin. **Br. J. Pharmacol.**, v. 92, p. 781-788, 1987.
- GALLI, S.J., GORDON, J.R., WERSHIL, B.K. Cytokine production by mast cells and basophils. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 3, p. 865-872, 1991.

- GIANNAKOU, S.A., DALLAS, P.P., REKKAS, D.M., CHOULIS, N.H.
Development and *in vitro* evaluation of nimodipine transdermal formulations using factorial design. **Pharm. Dev. Technol.**, v. 3, p. 517-525, 1998.
- GILROY, D.W., TOMLINSON, A., WILLOUGHBY, D.A. Differential effects of inhibition of isoforms of cyclooxygenase (COX-1, COX-2) in chronic inflammation. **Inflamm. Res.**, v. 47, p. 79-85, 1998.
- GLAVIN, G.B., SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. **The FASEB Journal**, v. 6, p. 825-831, 1992.
- GRAVES, N.M., LEPPIK, I.E. Advances in pharmacotherapy: recent developments in the treatment of epilepsy. **J. Clin. Pharm. Ther.**, v. 18, p. 227-242, 1993.
- GÖBEL, H., SCHMIDT, G., DWORSCHAK, M. et al. Essential plant oils and headache mechanisms. **Phytomedicine**, v. 2, p. 93-102, 1995.
- GORDON, J.R., GALLI, S.J. Mast cells as a source of both preformed and immunologically inducible TNF α /cachectin. **Nature**, p. 274-276, 1990.
- GORDON, J.R., BURD, P.R., GALLI, S.J. Mast cells as a source of multifunctional cytokines. **Immunol. Today**, v. 11, p. 458-464, 1990.
- GORSKI, J.P., HUGLI, T.E., MULLER, H.J. The third anaphylatoxin of the human complement system. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 76, p. 5299-5304, 1979.
- GOTH, A. & JOHNSON, A.R. Current concepts in the secretory function of mast cells. **Life Sci.**, v. 16, p. 1201-1214, 1975.
- GRAMICCIONI, E., PAMPARANA, F., MESSA, A. Mucolytic agents: Polycentric study of a carbocysteine-sobrerol combination. **Arch. Monaldi Mal. Torace**, v. 44, p. 791-793, 1989.
- GREENE, R.W., HAAS, H.L. The electrophysiology of adenosine in the mammalian nervous system. **Prog. Neurobiol.**, v. 36, p. 329-341, 1991.

- GREENWOOD, C. The pharmacology of ketotifen. **Chest I (Suppl.)**, p. 45-48, 1982.
- GRIESBACHER, T., ALTHUBER, P., ZENZ, M., RAINER, I., GRIENGL, S., LEMBECK, F. *Vespa vulgaris* venom: role of kinins and release of 5-hydroxytryptamine from skin mast cells. **Eur, J. Pharmacol.**, v. 351, p. 95-104, 1998.
- GRISWOLD, D.E., ALESSI, S., WEBB, E.F., WALTZ, D.T. Inhibition of carrageenan-induced inflammation by urethane anaesthesia in adrenalectomized and sham operated rats. **J. Pharmacol. Methods**, v. 8, p. 161-164, 1982.
- GUIEV, R., PERAGUT, J.C., ROUSSEL, P., HASSANI, H., SAMPIERI, F., BECHIS, G., GOLLA, R., ROCHAT, H. Adenosine and neuropathic pain. **Pain**, v. 68, p. 271-274, 1996.
- GUO, Y., MOCHIZUKI, T., MORII, E., KITAMURA, Y., MAEYAMA, K. Role of mast cell histamine in the formation of rat paw edema: a microdialysis study. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 331, p. 237-243, 1997.
- GUPTA, M., BRANS, Y.M. Gastric retention in neonates. **Pediatrics**, v. 62, p. 26-29, 1978.
- GURR, F.W., SCROGGIE, J.G. Eucalyptus oil poisoning treated by dialysis and mannitol infusion. **Aust. Ann. Med.**, v. 14, p. 238-249, 1965.
- HAAGEN-SMITH, A.J. The chemistry, origin and function of essential oils in plant life. In: GUENTHER, E. **The Essential Oils**. Florida: Krigler Publishing Company, 1975, v.1, p. 285-300.
- HAAS, F., BERGOFSKU, E.H. Role of the mast cell in the pulmonary pressor response to hypoxia. **J.Clin. Invest.**, v. 51, p. 3154-3162, 1972.
- HABERMAN, E. Bee and wasp venoms. **Science**, v. 177, p. 314-322, 1972.
- HALLIWELL, B. Introduction to free radicals in human disease. **Saudi Medical Journal**, v. 12, p. 13-19, 1991.

- HANNON, J.P., PFANNKUCHE, H.J., FOZARD, J.R. A role for mast cells in adenosine A₃ receptor mediated hypotension in the rat. **Br. J. Pharmacol.**, v. 115, p. 945, 1995.
- HARVEY, A.L. The pharmacology of galanthamine and its analogues. **Pharmacol. Ther.**, v. 68, p. 113-128, 1995.
- HILL, S.J. Distribution, properties and functional characteristics of three classes of histamine receptor. **Pharmacol. Rev.**, v. 42, p. 45-83, 1990.
- HIMURA-LIMA, C.A., COTA, R.H.S., NUNES, D.S. et al. Estudos preliminares das ações centrais do óleo das cascas de *Croton cajucara* Benth. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, 1996, Florianópolis. **Programa e Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1996.
- HOHENWALLNER, W., KLIMA, J. *In vitro* activation of glucuronyl transferase in rat liver by eucalyptol. **Biochem. Pharmacol.**, v. 20, p. 3463-3472, 1971.
- HONG, Y., ABBOTT, F.V. Behavioral effects of intraplantar injection of inflammatory mediators in the rat. **Neuroscience**, v. 63, p. 827-836, 1994.
- HUANG, M.T., LYSZ, T., ABIDL, T.F., LASKIN, J.D., CONNEY, A.H. Inhibitory effect of curcumin on *in vitro* lipooxygenase and cyclooxygenase activities in mouse epidermis. **Cancer Res.**, v. 51, p. 813-819, 1991.
- HUNSKAAR, S., HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and noninflammatory pain. **Pain**, v. 30, p. 103-104, 1987.
- ISHIKAWA, T., YANAGISAWA, M., KIMURA, S., GOTO, K., MASAKI, T. Positive chronotropic effects of endothelin, a novel endothelium-derived vasoconstrictor peptide. **Pfuegers Arch.**, v. 413, p. 108-110, 1988.
- ISHIZAKA, T. Mechanisms of IgE-mediated hypersensitivity. In: MIDDLETON Jr., E. **Allergy: Principles and Practice**. St. Louis: Mosby, 1988. p. 71-93.
- ITOH, M. & GUTH, P.A. Role of oxygen-derived free radicals in haemorrhage ethanol gastric lesions in the rat. **Gastroenterology**, v. 88, p. 1162-1167, 1985.

- ITOKAWA, H., WATANABLE, K., MIHASHI, S. et al. Isolation of agarofuran-type sesquiterpenes from *Alpinia japonica* (Thunb) Miq. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 28, p. 681-682, 1980.
- ITOKAWA, H., AIYAMA, R., IKUTA, A. A pungent diarylheptanoid from *Alpinia oxyphylla*. **Phytochemistry**, v. 20, p. 769-771, 1981a.
- ITOKAWA, H., MORITA, M., MIHASHI, S. Two new diarylheptanoids from *Alpinia officinarum* Hance. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 29, p. 2383-2385, 1981b.
- ITOKAWA, H., MORITA, H., OSAWA, K et al. Structural relationships of sesquiterpenes obtained from *Alpinia japonica*. **Tennen Yukikogobutsu Torankai Koen Yoshishu**, v. 27, p. 458-465, 1985.
- ITOKAWA, H., YOSHIMOTO, S., MORITA, H. Diterpenes from the rhizomes of *Alpinia formosa*. **Phytochemistry**, v. 27, p. 435-438, 1988.
- JACOBS, M.B. Root beer flavor components. **Amer. Perf. Essent. Oil Rev.**, v. 51, p. 55-57, 1948.
- JACOBSON, K.A., KIRK, K.L., DALY, J.W., JANZON, B., LI, Y.O., FREDHOLM, B.B. A novel 8-phenyl-substituted xanthine derivated is a selective antagonist at A₁ receptor *in vivo*. **Acta Physiol. Scand.**, v. 125, p. 341, 1985.
- JACOBSON, K.A. Adenosine (P₁) and ATP (P₂) receptors. In: HANSCH, C., SAMMES, P.G., TAYLOR, J.B. **Comprehensive Medicinal Chemistry**, v. 3; Membranes & Receptors. Pergamon Press, Oxford, p. 601-642.
- JACOBSON, K.A., VANGALEN, P.J.M., WILLIAMS, M. Adenosine receptors: pharmacology, structure-activity relationship and therapeutic potential. **J. Med. Chem.**, v. 35, p. 417, 1992.
- JACOBSON, K.A. Adenosine A₃ receptors: novel ligands and Paradoxical effects. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 19, p. 184-190, 1998.

- JAGER, W., NASEL, B., NASEL, C., BINDER, R., STIMPFL, T., VYCUDILIK, W., BUCHBAUER, G. Pharmacokinetic studies of the fragrance compound 1,8-cineol in humans during inhalation. **Chem. Sens.**, v. 21, p. 477-480, 1996.
- JEDLICKOVA, Z., MOTTL, O., SERY, V. Antibacterial properties of the Vietnamese cajeput oil and ocimum oil in combination with antibacterial agents. **J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.**, v. 36, p. 303-309, 1992.
- JESSEL, T.M., IVERSEN, L.L. & CUELLO, A.C. Capsaicin-induced depletion of substance P from primary sensory neurones. **Brain Res.**, v. 152, p. 183-188, 1978.
- JETT, M.F. & MICHELSON, S. The formalin test in rat: validation of an automated system. **Pain**, v. 64, p. 19-25, 1996.
- JIANG, J., VAN RHEE, A.M., CHANG, L., PATCHORNIK, A., JI, X.D., EVANS, P., MELMAN, N. & JACOBSON, K.A. Structure-activity relationship of 4-(phenylethynyl)-1,4-dihydropyridines as highly selective A₃ adenosine receptor antagonists. **J. Med. Chem.**, v. 40, p. 2596-2608, 1997.
- JIRTLE, R.L., HAAG, J.D., ARIAZI, E.A., GOULD, M.N. Increased mannose 6-phosphate/insuline-like growth factor II receptor and transforming grown factor beta 1 levels during monoterpene-induced regression of mammary tumors. **Cancer Res.**, v. 53, p. 3849-3852, 1993.
- JORI, A., BENTIVOGLIO, A.P., CARATTINI, S. The machanism by compound 48/80 and dextran in rats, **J. Pharm. Pharmac.**, v. 13, p. 617-619, 1961.
- JORI, A., BRIATICO, G. Effect of eucalyptol on microosomal enzyme activity of foetal and newborn in rats. **Biochem. Pharmacol.**, v. 22, p. 543-544, 1973.
- JUERGENS, U.R., STOBER, M., VETTER, H. Inhibition of cytokine production and arachidonic acid metabolism by eucalyptol (1,8-cineole) in human blood monocytes *in vitro* **Eur. J. Med. Res.**, v. 17, p. 508-510, 1998a.

- JUERGENS, U.R., STOBER, M., SCHMIDT-SCHILLING, L., KLEUVER, T., VETTER, H. Antiinflammatory effects of eucaliptol (1.8-cineole) in bronchial asthma: inhibition of arachidonic acid metabolism in human blood monocytes *ex vivo*. **Eur. J. Med. Res.**, v. 17, p. 407-412, 1998b.
- KAPER, J.B., MORRIS, J.G., LEVINE, M.M. Cholera. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 8, p. 48-86, 1995.
- KAPLAN, A.P. & BEAVEN, M.A. In vivo studies of the pathogenesis of cold urticaria, cholinergic urticaria and vibration induced swelling. **J. Invest. Dermatol.**, v. 67, p. 327-332, 1976.
- KAPUI, Z., BOËR, K., RÔZSA, I., BLASKÔ, G., HERMECZ, I. Investigations of indomethacin-induced gastric ulcer in rats. **Arzneimittel-Forschung**, v. 43, p. 767-771, 1993.
- KARLSTEN, R., GORDH, T., POST, C. Local antinociceptive and hyperalgesic effects in the formalin test after administration of adenosine analogues in mice. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 70, p. 434-438, 1992.
- KEIL, G.J., DeLANDER, G.E. Altered sensory behaviors in mice following manipulation of endogenous spinal adenosine neurotransmission. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 312, p. 7-14, 1996.
- KENNERLY, D.A., SULLIVAN, T.J., PARKER, C.W. Activation of phospholipid metabolism during mediator release from stimulated rat mast cells. **J. Immunol.**, v. 122, p. 152-159, 1979.
- KENT, A.P., WEBSTER, R.A. The evaluation of different types of anti-convulsant drug activity against leptazol-induced epileptogenic activity in the anesthetized rat. **Brit. J. Pharmacol.**, v. 78, p. 553-559, 1983.
- KHAN, A.A., RAJA, S.N., MANNING, D.C., CAMPBELL, J.N., MEYER, R.A. The effects of bradykinin and sequence-related analogs on the response properties of cutaneous nociceptors in monkeys. **Somatosens. Mot. Res.**, v. 9, p. 97-106, 1992.

- KHANNA, U., CHAUDHURY, R.R. Antifertility screening of plants I. investigations on *Butea monosperma* Lam (Kuntze): Advances in Research in Indian Medicine. Varanasi, India, K.N. Udupa, (Ed.). B.H.U. Press, 1970, p. 213-214.
- KINNET, J.P. The high-affinity receptor for IgE. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 2, p. 499-505, 1989.
- KITAMURA, Y. Heterogeneity of mast cells and Phenotypic changes between subpopulations. **Ann. Rev. Immunol.**, v. 7, p. 59-76, 1989.
- KLAYMAN, D.L. Qinghaosu (artemisimin) an antimalarial drug from China. **Science**, v. 228, p. 1049-1055, 1985.
- KOCH-HEITZMAN, I., SCHULTZE, W.Z. *Melissa officinalis* L.: volatile oil produces sedative, spasmolytic and antibacterial action attribute to presence of citronellal, caryophylline, linalol, citral and limonene. **Phytother. Res.**, v. 9, p. 77-85, 1988.
- KOSTER, R., ANDERSON, M., DE BEER, J. Acetic acid for analgesic screening. **Fed. Proc.**, v. 18, p. 412-417, 1959.
- KOVAR, K.A., GROPPER, B., FRIESS, D. et al. Blood levels of 1,8-cineole and locomotor activity of mice after inhalation and oral administration of Rosemary oil. **Planta Med.** p. 315-318, 1987.
- KRISTIANSEN, E., MADSEN, C. Induction of protein droplet (alpha 2 mucoglobulin) nephropathy in male rats after short-term dosage with 1,8-cineole and l-limonene. **Toxicol. Lett.**, v. 80, p. 147-152, 1995.
- KUBO, M., MATSUDA, H., TOMOHIRO, N., YOSHIKAWA, M. Studies on *Alismatis rhizoma*. I. anti-allergic effects of methanol extract and six terpene compounds from *Alismatis rhizoma* (dried rhizome of *Alisma orientale*). **Bio Pharm. Bull.**, v. 20, p. 511-516, 1987.
- KUTCHN, T.M. Strictosidine: from alkaloid to enzyme to gene. **Phytochemistry**, v. 32, p. 493-506, 1993.

- LACOSTE, L., BARTOLUCCI, S., LAPOINTE, J. Pentylentetrazole inhibits glutamate dehydrogenase and aspartate aminotransferase and stimulates GABA aminotransferase in homogenates from rat cerebral cortex. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 66, p. 1135-1138, 1988.
- LAGUNOFF, D., MARTIN, T.W., READ, G. Agents that release histamine from mast cells. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 23, p. 331-351, 1983.
- LAHLOU, S., PINTO-DUARTE, G.I.B., COELHO-DE-SOUZA, A.N., et al. Papel do sistema nervoso autônomo nos efeitos cardiovasculares do óleo essencial de *Croton nepetaefolius* em ratos normotensos acordados. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, 1996, Florianópolis. **Programa e Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1996.
- LANZA, L.L., WALKER, A.M., BORTNICHAK, E.A., DREYER, N.A. Peptic ulcer and gastrointestinal hemorrhage associated with nonsteroidal anti-inflammatory drug use in patients younger than 65 years. **Arch. Intern. Med.**, v. 155, p. 1371-1377, 1995.
- LAUDE, E.A., MORICE, A.H., GRATTAN, T.J. The antitussive effects of menthol, camphor and cineole in conscious guinea-pigs. **Pulm. Pharmacol.**, v. 7, p. 179-184, 1994.
- LAVABRE, M. **Aromaterapia: A cura pelos óleos essenciais**. 2 ed. Rio de janeiro: Record, 1992. p. 121-133.
- LAWRENCE, I.D., WARNER, J.A., COHAN, V.L., HUBBARD, W.C., KAGEY-SOBOTKA, A., LICHTENSTEIN, L.M. Purification and characterizations of human skin mast cells. Evidence for human mas cell heterogeneity. **J. Immunol.**, v. 139, p. 3062-3069, 1987.
- LEAL-CARDOSO, J.H., LAHLOU, S., PINTO-DUARTE, G.I.B. et al. Efeitos do *Croton nepetaefolius* em parâmetros cardiovasculares em ratos. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, 1996, Florianópolis. **Programa e Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1996.
- LE BOURHIS, B. Researches preliminaires sur le metabolisme du trans-anethole. **Ann. Biol. Clin.**, v. 26, p. 711-715, 1968.

- LE BOURHIS, B. Identification de quelques metabolites du trans-anethole chez l'Homme, le Lapin et le rat. **Ann. Pharm. Franç.**, v. 28, p. 355-361, 1970.
- LE BOURHIS, B, SOENEN, A.M. Recherches sur l'action psychotrope de quelques substancias aromatiques utilisées en alimentation. **Food Cosmet. Toxicol.**, v. 11, p. 1-9, 1973.
- LEIIST, GANTNER, F., BOHLINGER, I., TIEGS, G., GERMANN, P.G., WENDEL, A. Tumor necrosis factor-induced hepatocyte apoptosis precedes liver failure in experimental murine shock models. **Am. J. Pathol.**, v.146, p. 1220-1234, 1995.
- LEMANSKE, R.F., KALINER, M.A. Late phase allergic reactions. In: **Allergy, principles and practice. Middleton, E., Reed, C.E., Ellis, E.F. (eds). St. Louis, MO: Mosby, p. 224-246, 1988.**
- LE MOAN, G. Les aromatisants; problèmes toxicologiques posés par leur emploi. **Aliment. et vie.**, v. 61, p.121-160, 1973.
- LE MOS, T.L.G., MATOS, F.J.A., ALENCAR, J.W. et al. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. **Phytother. Res.**, v. 4, p. 82-84, 1990.
- LEVINE, R.A., NANDI, J., KING, R.L. Nonsalicylic nonsteroidal antiinflammatory drugs augment prestimulated acid secretion in rabbit parietal cells: Investigation of the mechanism of action. **Gastroenterology**, v. 101, p. 756-765, 1991.
- LEVINE, R.A., SCHWARTZEL, E.H. Jr. Effect of indomethacin on basal and histamine-stimulated human gastric acid secretion. **Gut**, v. 25, p. 718-722, 1984.
- LEVISON, K.K., TAKAYAMA, K., ISOWA, K., OKABE, K., NAGAI, T. Formulation optimization of indomethacin gels containing a combination of three kinds of cyclic monoterpenes as percutaneous penetration enhancers. **J. Pharm. Sci.**, v. 83, p. 1367-1372, 1994.

- LIMA, E.O., GUERRA, M.F.L., SILVA, M.G. Avaliação da atividade biológica do óleo essencial de *Althea rosea* Cow (Malvaceae). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, 1996, Florianópolis. **Programa e Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1996.
- LINDEN, J. Cloned adenosine receptors: Pharmacological Properties, species differences and receptor functions. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 15, p. 298-306, 1994.
- LIPPA, A.S. COUPET, J., GREENBLATT, E.N., KLEPNER, C.A., BEER, B. A synthetic non-benzodiazepine ligand for benzodiazepine receptors: a probe for investigating neuronal substrates of anxiety. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 11, p. 99-106, 1979.
- LO, T.N., ALMEIDA, A.P., BEAVEN, M.A. Dextran and carrageenan evoke different inflammatory responses in rat with respect to composition of infiltrates and effect on indomethacin. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 221, p. 261-267, 1982.
- LORENZETTI, B.B., SOUZA, G.E., SARTI, S.J. et al. Myrcene mimics the peripheral analgesic activity of lemongrass tea. **J. Ethnopharmacol.**, v. 34, p. 43-48, 1991.
- LÖSCHER, W., SCHIMID, D. **Curr. Opin. Invest. Drugs.**, v. 2, p. 1067-1095, 1993.
- MACHT, D. The absorption of drugs and poisons through the skin and mucus membrane. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 110, p. 409-414, 1938.
- MAGALHÃES, P.J.C., COELHO-DE-SOUZA, A.N., BARATA, E.L. et al. Efeitos do óleo essencial de *Croton zehntneri* em músculo liso intestinal. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE), 10, 1995, Serra Negra. **Resumos...** Serra Negra: FESBE, 1995.
- MAHMOUD, A.L. Antifungal action and antiaflatoxigenic properties of some essential oil constituents. **Lett. Appl. Microbiol.**, v. 19, p. 110-113, 1994.

- MAJNO, G., PALADE, G.E. Studies on inflammation. I. The effect of histamine and serotonin on vascular permeability: An electron microscopic study. **J.Biophys.Biochem.Cytol.**, v.11, p. 571-606, 1961.
- MALING, H.M., WEBSTER, M.E., WILLIAMS, M.A., SAUL, W., ANDERSON, W.JR. Inflammation induced by histamine, serotonin, bradykinin and compound 48/80 in the rat: Antagonists and mechanisms of action. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 191, p. 300-310, 1974.
- MALMBERG, A.B., YAKSH, T.L. Pharmacology of the spinal action of ketorolac, morphine, ST - 91, U 50488H and L-PIA on the formalin test and an isobolographic analysis of the NSAID interaction. **Anesthesiology**, v. 79, p. 270-281, 1993.
- MARGO, A.M. Involvement of IgE in con-A induced histamine release from human basophils *in vitro*. **Nature**, v. 249, p. 572-574, 1974.
- MARQUARDT, D.L. Adenosine and other mast cell preformed mediators. **Allergy Proc.**, v. 15, p. 125-127, 1994.
- MARTIN, S., PADILLA, E., OCETE, M.A. et al. Anti-inflammatory activity of the essential oil of *Bupleurum fruticosens*. **Planta Med.**, v. 59, p. 533-536, 1993.
- McCHOULAM, R., BREUER, A., FEIGENBAUM, J.J. et al. Nonpsychotropic synthetic cannabinoids as therapeutic agents. **Farmaco.**, v. 46, p. 197-201, 1991.
- McGEE, D.W., ELSON, C.O., McGHEE, J.R. Enhancing effect of cholera toxin on interleucine-6 secretion by IEC-6 intestinal epithelial cells: mode of action and augmenting effect of inflammatory cytokines. **Infect. Immun.**, v. 61, p. 4637-4644, 1993.
- McMOHAN, S.B. & KOLTZENBURG, M. Itching for an explanation. **Trends Neurosci.**, v. 15, p. 497-501, 1992.
- McMOHAN, S.B., LEWIN, G.R., WALL, P.D. Central hyperexcitability triggered by noxious inputs. **Curr. Opin. Neurobiol.**, v. 3, p. 602-610, 1993.

- MEISSNER, G. Ryanodine activation and inhibition of the Ca^{2+} release channel of sarcoplasmic reticulum. **J. Biol. Chem.**, v. 261, p. 6300-6306, 1986.
- MELIS, K., JANSSENS, G., BOCHNER, A. Accidental nasal eucalyptol and menthol instillation. **Acta. Clin. Belg. Suppl.**, v. 13, p. 101-102, 1990.
- MEKORI, Y.A., GALLI, S.J. I-fibrin deposition at both early and late intervals of IgE-dependent and contact sensitivity reactions elicited in mouse skin. **J. Immunol.**, v. 145, p. 3719-3727, 1990.
- MELLO, C.F., DE-LA-VEJA, D.D., LOPES, F.P., SCHWARTZ, C.C., JIMENEZ-BERNAL, R.E., BELLOT, R.G., FRESSA-FILHO, R. Antinociceptive effect of purine nucleotides. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, v. 29, p. 1379-1387, 1996.
- MENDES, N.M., ARAUJO, N. De-SOUZA, C.P. et al. Molluscicide and cercariacide activity of different species of *Eucalyptus*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 23, p. 197-199, 1990.
- MENDONÇA, V.L.M. **Estudo Farmacológico e Toxicológico de *Alpinia speciosa* Scum.** Fortaleza, 1989. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará.
- MENEZES, A.M., ALMEIDA, F.R.C., RAO, V.S.N. et al. Anti-inflammatory activity of the essential oil of *Vanillosmopsis arborea*. **Fitoterapia**, v. 61, p. 252-254, 1990.
- METECALFE, D.D., BARAM, D., MEKORI, Y.A. Mast cells. **Physiol. Rev.**, v. 77, p. 1033-1079, 1997.
- METCALFE, D.D., KALINER, M., DONLON, M.A. The Mast Cell. **CRC Critical Rev. Immunol.**, v. 3, p. 23-74, 1981.
- MILLER, H.R.P., KING, S.J., GIBSON, S., HUNTLEY, J.F., NEWLANDS, G.F.J., WOODBURY, R.G. Intestinal mucosal mast cells in normal and parasitized rats. In: BEFUS, A.D. Mast cell differentiation and heterogeneity, New York, Raven Press, 1986. p. 239-265.

- MILLER, R.C., TAINTER, M.L. Estimation of DE_{50} and error by mean logarithmic probit graph paper. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 57, p. 261-264, 1944.
- MILLER, H.R.P., HUNTLEY, J.F., NEWLANDS, G.F.J., MACKELLAR, A., IRVINE, J., HAIG, D.M., MACDONALD, A., LAMMAS, A.D., WAKELIN, D., WOODBURY, R.G. Mast cell granule proteases in mouse and rat: a guide to mast cell heterogeneity and activation in the gastrointestinal tract. In: GALLI, S.J., AUSTEN, K.F. **Mast Cell and Basophil Differentiation and Function in Health and Disease**. New York: Raven, 1989.
- MIZUMURA, K., MINAGAWA, M., TSUJII, Y., KUMAZAWA, T. The effects of bradykinin agonists and antagonists on visceral polymodal receptor activities. **Pain**, v. 40, p. 221-227, 1990.
- MOERMAN, D.E. Medicinal plants of native America. v. 1. **Ann. Arbor.**, Univ. of Michigan Museum of Anthropology, 1986. 477p.
- MOLKUS, P., DuPONT, C. Ketotifen treatment of atopic dermatitis and other food allergy diseases. **Allergy**, v. 44, p. 117-123, 1989.
- MONCADA, S.R., PALMER, M.G., HIGGS, E.A. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacol. Rev.**, v. 43, p. 109-142, 1991.
- MORAES, L.C.S.L., LEMOS, R.G.V., ALMEIDA, R.N., et al. Estudo químico e farmacológico de alcalóides e óleos essenciais de *Ocatea duckei* vattimo. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE), 10, 1995, Serra Negra. **Resumos...** Serra Negra: FESBE, 1995.
- MOORE, P.K., WALLACE, P., GAFFEN, Z., HART, S.L., BABBEDGE, R.C. Characterization of the novel nitric oxide synthase inhibitor 7 nitro indazole and related indazoles: antinociceptive and cardiovascular effects. **Br. J. Pharmacol.**, v. 110, p. 219, 1993.

- MOORE, D.D. Diversity and unity in the nuclear hormone receptors: a terpenoid receptor superfamily. **New Biol.**, v. 2, p. 100-105, 1990.
- MORGAN, J.L., CURRAN, T. Proto-oncogene transcription factors and epilepsy. **TIPS**, v. 12, p. 343-349, 1991.
- MORIKAWA, A., KATO, Y., SUGIYAMA, T., KOIDE, N., KAWAI, M., FUKADA, M., YOSHIDA, T., YOKOCHI, T. Altered expression of constitutive and inducible type heat shock proteins in response of D-galactosamine-sensitized mice to lipopolysaccharide as an experimental endotoxic shock model. **FEMS. Immunol. Med. Microbiol.**, v. 21, p. 37-45, 1998.
- MOTA, I., BERALDO, W.T., JUNQUEIRA, L.C.U. Protamine-like property of Compound 48/80 and stillamidine and their action on mast cells. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med., N.Y.**, v. 83, p. 455-457, 1953.
- MOTA, I. The mast cell revised. **Brazian J. Med. Biol. Res.**, v. 28, p. 895-901, 1995.
- MURRAY, C.W., PORRECA, F., COWAN, A. Methodological refinements in the mouse paw formalin test - an animal model of tonic pain. **J. Pharmacol. Methds**, v. 20, p.175-186, 1988.
- NADKARNI, A.K. **Indian Materia Medica**. Bombay: Popular Prakasham, 1976. p. 1017-1019.
- NDIEGE, I.O., BUDENBERG, W.J., OTIENO, D.O. et al. 1,8-Cineole: An Attractant for the Banana Weevil, *Cosmopolites sordidus*. **Phytochemistry**, v. 42, p. 369-371, 1996.
- NILSSON, O., CASSUTO, J., LARSSON, P.A., JODAL, M., LIDBERG, P., AHLMAN, H., DAHLSTRÖM, A., LUNDGREEN, O. 5-Hydroxytryptamine and cholera secretion: a histochemical and physiological study in cats. **Gut**, v. 24, p. 542-548, 1983.
- NISHIZUKA, Y. Studies and perspectives of protein kinase C. **Science**, v. 223, p. 305-312, 1984.

- NOGUEIRA, D.C.F., ANTONIO, M.A., DIAS, P.C. et al. Atividade antiulcerogênica dos princípios ativos isolados do óleo essencial de *Vanillosmopsis erytropappa*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, 1996, Florianópolis. **Programa e Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1996.
- NORRIS, H.T., ZAMCHECK, N., GOTTLIEB, L.S. The presence and administration of mast cells in the human gastrointestinal tract. **Gastroenterology**, v.44, p. 448-455, 1963.
- OATES, P.J., HAKKINEM, J.P. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. **Gastroenterology**, v. 94, p. 10-21, 1988.
- OBATA, Y., TAKAYAMA, K., MACHIDA, Y. et al. Combined effect of cyclic monoterpenes and ethanol on percutaneous absorption of diclofenac sodium. **Drug. Des. Discov.**, v. 8, p. 137-144, 1991.
- OERTEL, H.L., KALINER, M. The biological activity of mast cell granules. III. Purification of inflammatory factors of anaphylaxis (IF-A) responsible for causing late-phase reactions. **J Immunol.**, v. 127, p. 1398-1402, 1981.
- OKUGAWA, H., VEDA, R., MATSUMOTO, K. et al. Effect of α -santolol and β -santolol from sandalwood on the central nervous system in mice. **Phytomedicine**. v. 2, p. 119-126, 1995.
- OKUYAMA, E., UMEYAMA, K., SAITO, Y., YAMAZAKI, M., SATAKE, M. Ascaridole as a pharmacologically active principle of "Paico" a medicinal Peruvian plant. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 41, p. 1309-1311, 1993.
- OKANO, Y., ISHIZUKA, Y., NAKASHIMA, S., TOTMATSU, T., TAKAGI, H., NOZAMA, Y. Arachidonic acid release in rat peritoneal mast cells stimulated with antigen, ionophore A23187 and compound 48/80. **Biochem. Biophysic. Res. Commun.**, v. 127, p. 726-732, 1985.
- OLSSON, R.A., PEARSON, I.D. Cardiovascular purinoceptor. **Physiol. Rev.**, v. 70, p. 761-845, 1990.
- ONGINI, E., FREDHOLM, B.B. Pharmacology of adenosine A_{2A} receptors. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 17, p. 364-372, 1996.

- ORTIZ-DE-URBINA, A.V., MARTIN, M.L., MONTERO, M.J. et al.
Sedating and antipyretic activity of the essential oil of *Calamintha sylvatica* subsp. *ascendens*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 25, p. 165-171, 1989.
- OTTERNESS, I.G. & GAUS, D.L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: an analysis of the relationship between laboratory animal and clinical doses, including species scaling. **J. Pharm. Sci.**, v. 77, p. 790-795, 1988.
- PARRAT, J.R., & WEST, G.B. Inhibition by various substances of edema formation in the hind-paw of the rat induced by 5-hydroxytryptamine, histamine, dextran, egg white and compound 48/80. **Br. J. Pharmac. Chemother.**, v. 13, p. 65-70, 1957.
- PARRATT, J.R. Protection of the heart by ischaemic preconditioning: mechanisms and possibilities for pharmacological exploitation. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 15, p. 19-25, 1994.
- PATEL, S., WIGGINS, J. Eucalyptus oil poisoning. **Arch. Dis. Child.**, v. 5, p. 405-406, 1980.
- PEARCE, F.L., THOMPSON, H.C. Some characteristics of histamine secretion from rat peritoneal mast cells stimulated with nerve growth factor. **J. Physiol. (Lond.)**, v. 372, p. 379-393, 1986.
- PERRUCCI, S., CIONI, P.L., FLAMINI, G. et al. Acaricidal agents of natural origin against *Psoroptes cuniculi*. **Parassitologia**, v. 36, p. 269-271, 1994.
- PETTIBONE, D.J., MUELLER, G.P. Alpha adrenergic stimulation by clonidine increases plasma concentration of immunoreactive beta-endorphin in rats. **Endocrinology**, v. 109, p. 789-802, 1981.
- PHILLIPSON, J.D. Natural products as drugs. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 88, p. 17-19, 1994.
- PIOTROWSKI, W., FOREMAN, J.C. Some effects of calcitonin gene-related peptide in human skin and on histamine release. **Br. J. Dermatol.** v. 114, p. 37-46, 1986.

- PLOURDE, V., QUINTERO, E., SUTO, G., COIMBRA, C., TACHÉ, Y.
Delayed gastric emptying induced by inhibitors of nitric oxide synthase in rats. **Eur. J. Pharmacol.**, 256: 125-129, 1994.
- POON, A., SAWYNOK, J. Antinociception by adenosine analogs and inhibitors of adenosine metabolism in an inflammatory thermal hyperalgesia model in the rat. **Pain**, v. 74, p. 235-245, 1998.
- PORTER, R.J. New developments in the search for improved antiepileptic drugs. **Jpn. J. Psychiatr. Neurol.** v. 47, p. 145-162, 1993.
- POZZI, E. Sobrerol and chronic bronchitis. **Arch Monald. Mal. Torace**, v. 44, p. 4-6, 1989.
- PROUD, D. Kinins and mast cell related diseases. In: The mast cell in health and disease. KALINER, M.A., METCALFE, D.D. New York: Dekker, 1993, p. 415-442.
- PRUDENT, D., PERINEAU, F., BESSIERE, J.M. et al. Chemical analysis, bacteriostatic and fungistatic properties of the essential oil of the atouman from Martinique (*Alpinia speciosa* K. Scum.). **J. Essen. Oil Res.**, v. 5, p. 255-264, 1993.
- PSYCHOYOS, A. La réaction déciduale est précédée de modifications précoces de la perméabilité capillaire de l'utérus. **C. R. Soc. Biol.**, v. 7, p. 1384, 1387.
- PUURUNEN, J. Effect of prostaglandin E₂, cimetidine and atropine on ethanol-induced gastric mucosal damage in the rat. **Gastroenterology**, v. 15, p. 485-488, 1980.
- PUURUNEN, J., HUTTUNEN, P. Central gastric antisecretory action of adenosine in the rat. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 147, p. 59-66, 1988.
- RAINER, M., BRUNNBAUER, M., DUNKY, A., ENDER, F., GOLDSTEINER, H., HOLLM, O., KOTLAN, P., PAULITSCH, G., REINER, C., STÖSSL, J., ZACHHUBER, C., MÖSSLER, H. Therapeutic results with Cerebrolysin in the treatment of dementia. **Wien. Med. Wochenschr.**, v. 147, p. 426-431, 1997.

- RAMABADRAM, K., BANSINATH, M. The role of endogenous opioid peptides in the regulation of pain. **Crit. Rev. Neurobiol.**, v. 6, p. 13-32, 1990.
- RAMKUMAR, V., NIE, Z., RUBAK, L.P., MAGGIRWAR, S.B. Adenosine, antioxidant enzymes and cytoprotection. **Trends Pharmacol. Sic.**, v. 16, p. 283-285, 1995.
- RAO, V.S.N., MENEZES, A.M.S., VIANA, G.S.B. Effect of myrcene on nociception in mice. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 42, p. 877-878, 1990.
- REEVE, A.J. & DICKENSON, A.H. The roles of spinal adenosine receptors in the control of acute and more persistent nociceptive responses of dorsal horn neurones in the anaethetized rat. **Br. J. Pharmacol.**, v. 116, p. 2221-2228, 1995.
- RICHARDS, W., HILLSLEY, K., EASTWOOD, C., GRUNDY, D. Sensitivity of vagal mucosal afferents to Cholecystikinin and its role in afferent signal transduction in the rat. **J. Physiol. (Lond.)**, v. 497, p. 473-481, 1996.
- RILEY, J.F. The mast cells. Edinburg: E & Livinston, 1969. p. 5-17.
- ROBERT, A., NEZAMIS, J., LANCASTER, C., HANCHAR, J. Cytoprotection by prostaglandins in rats. **Gastroenterology**, v. 77, p. 433-443, 1979.
- ROJAS, E., SCORZA, J.V. The use of lemon essential oil as a sandfly repellent. **Trans. R. Soc. Trp. Med. Hyg.**, v. 85, p. 803, 1991.
- ROSENGREN, S., BONG, G.W., FIRESTEIN, G.S. Anti-inflammatory effects of an adenosine kinase inhibitor: decreased neutrophil accumulation and vascular leakage. **J. Immunol.**, v. 154, p. 5444-5451, 1995.
- ROSENGARD, B.R., MAHALIK, C., COCHRANE, D.E. Mast cell secretion: differences between immunologic and non-immunologic. **Agents Actions**, v. 19, p. 133-140, 1986.
- ROSSIE, S.S., MILLER, R.J. Regulation of mast cell histamine release by neurotensin. **Life Sci.**, v. 31, p. 509-516, 1982.
- ROSLAND, J.H., TJOLSEN, A., MAEHLE, B. et al. The formalin test in mice - effect of formalin concentration. **Pain**, v. 42, p. 235-242, 1990.

- ROWE, P.H., STARLINGER, M.J., KASDON, E., MARRONE, G., SILEN, W. Effect of systemic administration of aspirin, salicylate and indomethacin on amphibian gastric mucosa. **Gastroenterology**, v. 90, p. 932-944, 1988.
- ROWLEY, D.A., BENDIT, E.P. 5-Hydroxytryptamine and histamine as mediators of the vascular injury produced by agents which damage mast cells in rats. **J. Exp. Med.**, v. 103, p. 399-412, 1956.
- RUBY, J.A., KUTTAN, G., DINESH BABU, K.V., RAJASEKHARAN, K.N., KUTTAN, R. Anti-inflammatory activity of Natural and synthetic Curcuminoids. **Pharm. Pharmacol. Commun.**, v. 4, p. 103-106, 1998.
- RUDOLPHI, K.A., SCHUBERT, P., PARKINSON, F.E., FREDHOLM, B.B. Neuroprotective role of adenosine in Cerebral ischemia. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 13, p. 439-445, 1992.
- RUDZIK, A.D., HESTER, J.B., TANG, A.H. et al. In: Garattiini, S., Mussinii, E., Randall, L.O. **The Benzodiazepines**. New York: raven Press, 1973. p. 285-297.
- RUSSIN, W.A., HOESLY, J.D., ELSON, C.E., TANNER, M.A., GOULD, M.N. Inhibition of rat mammary carcinogenesis by monoterpenoids. **Carcinogenesis**, v. 10, p. 2161-2164, 1989.
- SAAVEDRA-DELGADO, A.M.P., METCALFE, D.D. The gastrointestinal mast cell in food allergy. **Ann. Allergy**, v. 51, p. 185-189, 1983.
- SAMPAIO, E.P., SARNO, E.N., GALILLY, R., COHN, Z.A., CAPLAN, G. Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor alpha production by stimulated human monocytes. **J. Exp. Med.**, v. 173, p. 699-703, 1994.
- SANTOS, F.A., RAO, V.S.N., SILVEIRA, E.R. Studies on the neuropharmacological effects of *Psidium guyanensis* and *Psidium pohlianum* essential oils. **Phytother. Res.**, v. 10, p. 655-658, 1996.
- SANTOS, F.A., RAO, V.S.N., SILVEIRA, E.R. The Leaf Essential Oil of *Psidium guyanensis* Offers Protection Against Pentylenetetrazole-induced Seizures. **Planta Médica**, v. 63, p. 133-135, 1997a.

- SANTOS, F.A., CUNHA, G.M.A., VIANA, G.S.B., RAO, V.S.N., MANOEL, A.N., SILVEIRA, E.R. Antibacterial Activity of Essential Oils from *Psidium* and *Pilocarpus* Species of Plants. **Phytotherapy Research**, v. 11, p. 67-69, 1997b.
- SANTOS, F.A., RAO, V.S.N., SILVEIRA, E.R. Studies on the Antiinflammatory and Analgesic Activities of the Essential Oil of *Psidium guyanensis* Pers. **Fitoterapia**, v. 68, n. 1, p. 65-68, 1997c.
- SANTOS, F.A., RAO, V.S.N. Mast cell involvement in the rat paw oedema response to 1,8-cineole, the main constituent of eucalyptus and rosemary oil. **Eur. J. Pharm.**, v. 331, p. 253-258, 1997d.
- SANTOS, F.A., RAO, V.S.N. Inflammatory edema induced by 1,8-cineole in the hindpaw of rats: a model for screening antiallergic and anti-inflammatory compounds. **Phytomedicine**, v. 5, p. 115-119, 1998.
- SARIA, A., MARTLING, C.R., YAN, Z., THEODORSSON-NORHEIM, E., GAMSE, R., LUMDBERG, J.M. Release of multiple tachykinins from Capsaicin - sensitive sensory nerves in the lung by bradykinin, histamine, dimethylphenyl piperazinium and vagal nerve stimulation. **Am. Rev. Respir. Dis.**, 137: 1330-1335, 1988.
- SAWYNOK, J. Purines and nociception. In: JACOBSON, K., JARVIS, M. F.. Purinergic approaches in Experimental Therapeutics. Wiley and Sons, New York, NY, 1997, p. 495-513.
- SAWYNOK, J., ZARRINDAST, M., REID, A., DOAK, G. Adenosine A₃ receptor activation produces nociceptive behavior and edema by release of histamine and 5-hydroxytryptamine. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 333, p. 1-7, 1997.
- SAWYNOK, J., SWEENEY, M.I. The role of purines in nociception. **Neuroscience**, v. 32, p. 557-569, 1989.
- SCARPIGNATO, C., TRAMACERE, R., ZAPPIA, L., SOLDATO, P.C. Inhibition of gastric acid secretion by adenosine receptor stimulation in the rat. **Pharmacology**, v. 34, p. 264-268, 1987.

- SCHEINMAN, R.I., COGSWELL, P.C., LOFQUIST, A.K., BALDWIN, A.S. Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. **Science**, v. 270, p. 282-286, 1995.
- SCHILLER, D., DORFMAN, A. The isolation of heparin from mast cells of the normal rats. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 31, p. 278-280, 1959.
- SCHWARTZ, L.B., AUSTEN, K.F. Structure and function of the chemical mediators of mast cells. **Prog. Allerg**, v.34, p. 271-321, 1984.
- SCHLEIMER, R.P. The mechanisms of anti-inflammatory steroid action in allergic diseases. **Ann. Ver. Pharmacol. Toxicol.**, v. 25, p. 381-412, 1985.
- SCHRIER, D.J., LESCH, M.E., WRIGHT, C.D., GILBERTSEN, R.B. The anti-inflammatory effects of adenosine receptor agonists on the carrageenan - induced pleural inflammatory response in rats. **J. Immunol.**, v. 145, p. 1874, 1990.
- SCHWARTZ, L.B. Heterogeneity of human mast cells. In: KALINER, M.A., METCALFE, D.D. The mast cells in health and disease New York: Dekker, 1993, p. 219-236.
- SCHWARTZ, L.B., AUSTEN, K.F. Structure and function of the chemical mediators of mast cells. **Prog. Allergy**, v. 34, p. 271-321, 1984.
- SEAMON, K.B., PADGETT, W., DALY, J.W. Forskolin: unique diterpene activador of adenylate cyclase in membranes of intact cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 78, p. 3363-3367, 1981.
- SEGAL, D.M., TAUROG, J.D., METZGER, H. Dimeric immunoglobulin E serves as a unit signal for mast cell degranulation. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 74, p. 2993-2998, 1977.
- SEIGLER, D.S. Terpenes and plant phylogeny. Apud DI STASI: **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência**. Editora UNESP, São Paulo, SP; 1995, p. 120-126.

- SERTIÉ, J.A.A., RESENDE, B.B., SUDO, L.S. et al. Atividade analgésica e antiinflamatória do óleo de Copaíba. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE), 10, 1995, Serra Negra. **Resumos...** Serra Negra: FESBE, 1995.
- SERTL, K., WIEDERMAN, C., KOWALSKI, M.L. HURTADO, S., PLUTBHOL, J., LINNOILA, I., PERT, C.B., KALINER, M.A. The relationship between receptor distribution in rat lung and the capacity of substance P to simulate vascular permeability. **Am. Rev. Res. Dis.**, v. 138, p. 151-159, 1988.
- SEYLE, H. The mast cell. WASHINGTON, DC: Butterworth, 1965. 498pp.
- SHAPIRO, S., MEIER, A., GUGGENHEIM, B. The antimicrobial activity of essential oils and essential components towards oral bacteria. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 9, p. 202-208, 1994.
- SIMONE, D.A., NGEOW, J.Y.F., WHITEHOUSE, J., BECERRA-CABAL, L., PUTTERMAN, G.J., LAMOTTE, R.H. The magnitude and duration of itch produced by intracutaneous injections of histamine. **Somatosens. Res.**, v. 5, p. 81-92, 1987.
- SLICHENMYER, W.J., VON HOFF, D.D. New natural products in Cancer Chemotherapy. **J. Clin. Pharmacol.**, v. 30, p. 770-788, 1990.
- SMEDIFORS, B., JOHANSSON, C. Stimulation of duodenal bicarbonate secretion by misoprostol. **Dig. Dis. Sci.**, v. 31, p. 969-1005, 1986.
- SMITH, W.L., DE WITT, D.L. Biochemistry of prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and synthase-2 and their susceptibility to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Semin. Nephrol.**, v. 15, p. 179-194, 1995.
- SOAJE-ECHAQUE, E., LIM, R.K.S. Anticonvulsant activity of some carbonyl ureas. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 138, p. 224-228, 1962.
- SOLLEVI, A., BELFRAGE, M., LUNDEBERG, T., SEGERDAHL, M., HANSSON, P. Systemic adenosine infusion: a new treatment modality to alleviate neuropathic pain. **Pain**, v. 61, p. 155-158, 1995.

- SOLLEY, G.O., GLEICH, G.J., JORDAN, R.E., SCHROETER, A.L. The late phase of the immediate wheal and flare reaction: its dependence upon IgE antibodies. **J. Clin. Invest.**, v. 50, p. 408-420, 1976.
- SOUSA, P.J.C., MAGALHÃES, P.J.C., LIMA, C.C., OLIVEIRA, V.S., LEAL-CARDOSO, J.H. Effects of piperitenone oxide on the intestinal smooth muscle of the guinea pig. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 30, p. 787-791, 1997.
- SOUZA, M.F., RAO, V.S.N., SILVEIRA, E.R. Antianaphylactic and anti-inflammatory effects of ternatin, flavonoid isolated from *Egletes viscosa* Less. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, v. 25, p. 1029-1032, 1992.
- SOUZA, M.F., RAO, V.S.N., MATOS, F.J.A. Estudo sobre os efeitos analgésico e anticonvulsivante do óleo essencial de *Egletes viscosa* Less (macela). In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE), 10, 1995, Serra Negra. **Resumos...** Serra Negra: FESBE, 1995.
- SOUZA, M.F., RAO, V.S.N., SILVEIRA, E.R. Inhibition of lipidic peroxidation by ternatin, a tetramethoxy flavone from *Egletes viscosa* Less. **Phytomedicine**, v. 4, p. 25-29, 1997.
- SPECTOR, N.A., WILLOUGHBY, P.A. Vasoactive amines in acute inflammation. **Ann. N. Y. Acad. Sci. USA**, v. 116, p. 839-846, 1964.
- SPECTOR, W.G., WILLOUGHBY, P.A. The inflammatory response. **Bacteriol. Rev.**, v. 27, p. 117-154, 1963.
- SPRINGER, T.A. Adhesion receptors in the immune system. *Nature*, v. 346, p. 426-434, 1990.
- STEAD, R.H., PERDUE, M.H., BLENNERHASSETT, M.G., KAKUTA, Y., SESTINI, P., BIENENSTOCK, J. The innervation of mast cells. In: FREIRE, S. (Ed.). *The neuroendocrine-immune network*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1990. p. 170-187.
- STILES, G. Adenosine receptors: Physiological regulation and biochemical mechanisms. **NIPS**, v. 6, p. 161-165, 1991.

- STONE, C.A., WENGER, H.C., LUDDEN, C.T., STAVORSKI, J.M., ROSS, C.A. Antisecretory-antihistaminic properties of cyproheptadine. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 131, p. 73-84, 1961.
- STROBEL, S., MILLER, H.R., FERGUSON, A. Human Intestinal mucosal mast cells: Evaluation of fixation and staining techniques. **J. Clin. Pathol.**, v. 34, p. 851-858, 1981.
- STUCKI, J.C. & THOMPSON, C.R. A scrennig procedure for substances which inhibit destran edema in the rat. **Am. J. Physiol.**, v. 193, n. 2, p. 275-282, 1958.
- SUGIMOTO, Y., UMAKOSHI, K., NOJIRO, N., KAMEL, C. Effects of histamine H₁ receptor antagonists on compound 48/80-induced scratching behavior in mice. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 351, p. 1-5, 1998.
- SWINYARD, E. A. A laboratory evaluation of antiepileptic drugs. **Epilepsia**, v. 10, p. 107-119, 1969.
- SWINYARD, E.A., WOODHEAD, J.H., WHITE, H.S. et al. In: LEVY, R., MATTSON, R., EMLDRUM, B.S. et al. Antiepileptic drugs. New York: Raven Press, 1989. p. 85-102.
- SWYNOK, J., SWEENEY, M.I. The role of purines in nociception. **Neuroscience**, v. 32, p. 557-569, 1989.
- SZABO, S., TRIER, J.S., BROWN, A., SCHNOOR, J. Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. **Gastroenterology**, v. 88, p. 228, 1985.
- SZABO, S., TRIER, J.S., FRANKEL, P.W. Sulfydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. **Science**, v. 214, p. 200-202, 1981.
- TAHA, A.S., DAHILL, S., NAKASHABENDI, I., LEE, F.D., STURROCK, R.D., RUSSELL, R.I. Duodenal histology, ulceration, and *Helicobacter pylori* in the presence or absence of non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Gut**, v. 34, p. 1162-1166, 1995.

- TAKAHASHI, R.N., PAZ, M.M. Influence of naloxone on analgesic effects of antidepressants in mice. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, v. 20, p. 607-610, 1987.
- TEIXEIRA, M.J., HOLANDA-FILHA, J.G., SANTOS, F.A. et al. Avaliação do efeito leishmanicida, *in vitro* de óleos essenciais e princípios ativos de plantas medicinais brasileiras. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, 1996, Florianópolis. **Programa e Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1996.
- THASTRUP, O., FODER, B., SCHARFF, O. The calcium mobilising and tumor promoting agent, thapsigargin, elevates the platelet free calcium concentration to a higher steady-state: A possible mechanism of action for tumor promotion. **Biochem. Biophys. Res. Common.**, v. 94, p. 654, 1987.
- TISSERAND, R., BALACS, T. **Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals**. New York: Churchill Livingstone, 1995, 279 p.
- TJOLSEN, A., BERGE, O.G., HUNSKAAR, S., ROSLAND, J.H., HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, p. 5-17, 1992.
- TONG, M.M., ALTMAN, P.M., BARNETSON, R.S. Tea tree oil in the treatment of tinea pedis. **Australias. J. Dermatol.**, v. 33, p. 145-149, 1992.
- TORRADO, S., TORRADO, S., AGIS, A. Effect of dissolution profile and (-)-alpha-bisabolol on the gastrotoxicity of acetylsalicylic acid. **Pharmazie**, v. 50, p. 141-143, 1995.
- TRIADAFILOPOULOS, G., POTHOUKAKIS, C., WEISS, R., GIAMPAOLO, C., LaMONT, J.T. Comparative study of *Clostridium difficile* toxin A and cholera toxin in rabbit ileum. Role of prostaglandins and leukotrienes. **Gastroenterology**, v. 92, p. 1174-1180, 1987.
- TRIADAFILOPOULOS, G., POTHOUKAKIS, C., WEISS, R., GIAMPAOLO, C., LaMONT, J.T. Comparative study of *Clostridium difficile* toxin A and cholera toxin in rabbit ileum. Role of prostaglandins and leukotrienes. **Gastroenterology**, v. 97 p. 1186-1192, 1989.

- TSICOPOULOS, A., HAMD, Q., HACZKU, A., JACOBSON, M.R., DURHAN, S.R., NORTH, J., BARKANS, J., CORRIGAN, C.J., MENG, Q., MOQBEL, R., KAY, A.B. Kinetics of cell infiltration and cytokine mRNA expression after intradermal challenge with allergen and tuberculin in the same atopic individual. **J. Allergy Clin.**, v. 94, p. 764-772, 1994.
- TUCKER, A.L., LINDEN, J. Cloned receptors and Cardiovascular responses to adenosine. **Cardiovasc. Res.**, v. 27, p. 62-67, 1993.
- TURSKI, W.A., CAVALHEIRO, E.A., BORTOLOTTI, Z.A., MELLO, L.M., SCHWARZ, M., TURSKI, L. Seizures produced by pilocarpine in mice: a behavioral, electroencephalographic and morphological analysis. **Brain Res.**, v. 321, p. 237, 1984.
- UCHIYAMA, M., MIHARA, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Anal. Biochem.**, v. 86, p. 271-278, 1978.
- UTRILLA, M.P., NAVARRO, M.C., JIMENEZ, J. et al. Santolindiacetylene, a polyacetylene derivative isolated from the essential oil of *Santolina canescens*. **J. Nat. Prod.**, v. 58, p. 1749-1952, 1995.
- VAANANEN, P.M., MEDDINGS, J.B., WALLACE, J.L. Role of oxygen-derived free radicals in indomethacin-induced gastric injury. **Am. J. Physiol.**, v. 261, p. G470-G475, 1991.
- VALE, T.G., RODRIGUES, A.E.M., VIANA, G.S.B. Efeitos do óleo essencial de *Lippia geminata* HBK nas convulsões produzidas por pentlenotetrazol, lidocaína e pilocarpina em ratos. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE), 10, 1995, Serra Negra. **Resumos...** Serra Negra: FESBE, 1995.
- VALE, T.G., VIANA, G.S.B., MATOS, F.J.A. Efeito anticonvulsivante do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Brow: Um estudo comparativo das variedades carvoneífera e citralífera. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, 1996, Florianópolis. **Programa e Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1996.

- VALENTIN, A., PELISSIER, Y., BENOIT, F. et al. Composition and antimalarial activity *in vitro* of volatile components of *Lippia multiflora*. **Phytochemistry**, v. 40, p. 1439-1442, 1995.
- VAN GALEN, P.J., STILES, G.L., MICHAELS, G., JACOBSON, K.A. Adenosine A₁ and A₂ receptors: Structure function relationships. **Med. Res. Rev.**, v. 12, p. 423-471, 1992.
- VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthasis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature**, v. 231, p. 232-235, 1971.
- VAVERKOVA, S., TEKEL, J., HOLLA, M. The effect of herbicides on the qualitative properties of medicinal plants. Part 3: Content and composition of the essential oil from *Melissa officinalis* L. after application of Basagran. **Pharmazie**, v. 50, p. 835-836, 1995.
- VELISKOVA, J., VELISEK, L.M., MARES, P. et al. Ketamine supresses both bicuculine- and picrotoxin-induced generalized tonic-clonic seizures during ontogenesis. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 37, p. 667-674, 1990.
- VISSCHER, F.E., SEAY, P.H., TAZELAAR, A.P.Jr., VEDKAMP, W., VANDERBROOK, M.J. Pharmacology of pamine bromide. **J. Pharmac. Exp. Ther.**, v. 110, p. 188-204, 1954.
- VILLAR, A., GASCO, M.A., ALCARAZ, M.J. Some aspects of the inhibitory activity of hyppolsetin-8-glucoside in acute anflammation. **J. Pharma. Pharmacol.**, v. 39, p. 502-507, 1987.
- YAMAHARA, J., YAMADA, T., KIMURA, H., SAWADA, T., FUJIMURA, H. Biologically active principles of crude drugs. II. Antiallergic principles. **J. Pharmacobiodyn.**, v. 5, p. 921-929. 1982.
- YAMAMURA, T., HARADA, K., OKAMURA, A., KENMOTSU, O. Is the site of ketamine anaesthesia N-methyl-D-aspartate receptor ?. **Anaesthesia**. v. 72, p. 704-710, 1990.

- YAMATODANI, A., MAEYAMA, K., WATANABE, T., WADA, H., KITAMURA, Y. Tissue distribution of histamine in a mutant mouse deficient in mast cells: clear evidence for the presence of non-mast cell histamine. **Biochem. Pharmacol.**, v. 31, p. 305-309, 1982.
- YANO, H., WERSHIL, B.K., ARIZONO, N., GALLI, S.J. Substance P-induced augmentation of cutaneous vascular permeability and granulocyte infiltration in mice is mast cell dependent. **J. Clin. Invest.**, v. 84, p. 1276-1286, 1989.
- YASKSH, T.I., RUDY, T. A. Studies on the direct spinal action of narcotics on the production of analgesia in the rat. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 202, p. 411-428, 1977.
- YEH, S.Y. Potentiation of pentazocine antinociception by tripelenamine in the rat. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 35, p. 683-701, 1980.
- YONEHARA, N., SHIBUTANI, T., INOKI, R. Contribution of substance P to heat-induced edema in rat paw. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 242, p. 1071-1076, 1987.
- YOUNG, J.D.E., LIU, C.C., BUTLER, G., COHN, Z.A., GALLI, S.J. Identification, purification, and characterization of a mast cell-associated cytolytic factor related to tumor necrosis factor. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 84, p. 9175-9179, 1987.
- WAGNER, K.A., NANDI, J., KING, R.L., LEVINE, R.A. The effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on ulcerogenesis and gastric secretion in pylorus-ligated rat. **Dig. Dis. Sci.**, v. 40, p. 134-140, 1995.
- WALLACE, J.L., KEENAN, C.M., GRANGER, D.N. Gastric ulceration induced by nonsteroid antiinflammatory drugs is a neutrophil-dependent process. **Am. J. Physiol.**, v. 259, p. G462-G467, 1990.
- WALLACE, J.L., REUTER, B.K., CIRINO, G. Nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a novel approach for reducing gastrointestinal toxicity. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 9, p. 40-44, 1994.

- WALLACE, J.L., BAK, A., McKNIGHT, W. Cyclooxygenase 1 contributes to inflammatory responses in rats and mice: Implications for gastrointestinal toxicity. **Gastroenterology**, v. 115, p. 101-109, 1998.
- WALT, R.P. Misoprostol for the treatment of peptic ulcer and antiinflammatory-drug-induced gastroduodenal ulceration. **N. Engl. J. Med.**, v. 327, p. 1575-1580, 1992.
- WANG, J.P., TENG, C.M. Rat paw oedema and mast cell degranulation caused by two phospholipase A₂ enzymes isolated from *Triersurus mucrosquamatus* venom. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 42, p. 846-850, 1990.
- WARREN, J.B. Vascular control of inflammatory oedema. **Clin. Sci.**, v. 84, p. 581-584, 1993.
- WELLER, P.F. Role of eosinophilis in allergy. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 4, p. 782-787, 1992.
- WEYERS, W., BRODBECK, B.W. Skin absorption of volatile oils. pharmacokinetics. **Pharm. Unserer. Zeit.**, v. 18, p. 82-86, 1989.
- WHITE, M.V. Mast cell secretagogues. In: KALINER, M.A., METCALFE, D.D. The mast cells in health and disease. New York: Dekker, 1993, p. 109-128.
- WHITCOMB, K., LUPICA, C.R., ROSEN, J.B., BERMAN, R.F. Adenosine involvement in postictal events in amygdala-kindled rats. **Epilepsy Res.**, v. 6, p. 171-179, 1990.
- WHITTLE. B.A. The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and non-narcotic analgesics. **Br. J. Pharmacol.**, v. 22, p. 246-253, 1964.
- WHITTLE. B.J., OREN WOLMAN, N., GUTH, P.H. Gastric vasoconstrictor actions of leukotriene C₄, PGF₂ alpha, and tromboxane mimetic U-46619 on rat submucosal microcirculation in vivo. **Am. J. Physiol.**, v. 248, p. 580-586, 1985.

- WIE, E.T., KIANG, J.G., BUCHAN, P. et al. Corticotropin-releasing factor inhibits neurogenic plasma extravasation in the rat paw. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 238, p. 783-787, 1986.
- WILSON, D.E., QUADROS, E., RAJAPAKSA, T., ADAMS, A., NOAR, M. Effects of misoprostol on gastric acid and mucus secretion in man. **Dig. Dis. Sci.**, p. 31, 1265-1295, 1986.
- WILLIAMS, A.C., BARRY, B.W. Terpenes and the lipid-protein-partitioning theory of skin penetration enhancement. **Pharm. Res.**, v. 8, p. 17-24, 1991.
- WINN, H.R., WELSII, J.E., BRYNER, C., RUBIO, R., BERNE, R.M. Brain adenosine production during the initial seconds of bicuculline seizures in rats. **Acta. Neurol. Scand.**, v. 60, p. 536, 1979.
- WINTER, C.A., RISLEY, E.A., NUSS, G.W. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 3, p. 544-547, 1962.
- WIRIMA, J.J., KHORMANA, C.O., MACHESO, A.F., HEYMANN, D.L., CAMPBELL, C.C. In vivo efficacy of quinine treatment for *Plasmodium falciparum* malaria in Malawian children. **Ann. Trp. Med. Parasitol.**, v. 84, p. 223-227, 1990.
- WOOD, P.L. Pharmacology of the second messenger, cyclic guanosine 3', 5' monophosphate, in the cerebellum. **Pharmacol. Rev.**, v. 43, p. 1-25, 1991.
- ZIFA, E., FILLION, G. 5-hydroxytryptamine receptors. **Pharmacol. Rev.**, v. 44, p. 401-458, 1992.
- ZWEIMAN, B. The late phase reaction: role of IgE, its receptor and cytokines. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 5, p. 950-955, 1993.
- ZYGMUNT, P.M., LARSSON, B., STERNER, O., VINGE, E., HÖGESTÄTT, E.D. Calcium antagonistic properties of the sesquiterpene T-Canadinol and related substances: structure activity studies. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 73, p. 3-9, 1993.