

Atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Echinodorus macrophyllus*(Kunth.) Micheli (Alismataceae)

Antinociceptive activity of essential oil from *Echinodorus macrophyllus*(Kunth.)Micheli (Alismataceae)

¹Daniele C. Fernandes; ¹Leosvaldo S. M. Velozo; ¹Rafael A. Alves; ¹Helena A. A. Siqueira; ¹Girlaine P. Silva; ¹Shirley V. M. Santos; ¹Carlos R. M. Gayer; ¹Marsen G. P. Coelho

¹Laboratório de Imunologia Aplicada e Bioquímica de Proteínas e Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Centro Biomédico – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Av. Professor Manoel de Abreu, 444, 4o andar, CEP-20550-170, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Correspondência: *e-mail: marsengpc@hotmail.com

Palavras chave:

Echinodorus macrophyllus, óleo essencial, hidrodestilação, potencial antinociceptivo.

Keywords:

Echinodorus macrophyllus, essential oil, hydrodistillation, antinociceptive potential.

Resumo

A *Echinodorus macrophyllus* (Kunth.) Mich., é uma planta de hábitos aquáticos, popularmente conhecido no Brasil como “chapéu de couro”, sendo utilizada no tratamento do reumatismo e outras afecções, comodiurético e antissifilítico. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito antinociceptivo do óleo essencial de *Echinodorus macrophyllus* (OEm), obtido através da hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado. A análise de seu perfil cromatográfico por cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) possibilitou a identificação de 21 componentes, sendo três majoritários (dillapiol, 2-tridecanona e óxido de cariofileno). Para a avaliação da atividade antinociceptiva do OEm foi empregado o modelo de hiperalgisia induzido por injeção intraperitoneal (i.p.) de ácido acético. Camundongos Swiss Webster (SW) machos, que foram tratados com OEm, por via oral (v.o.) nas doses de 50 e 100 mg/kg apresentaram inibição significativa das contorções induzidas por ácido acético de 65% e 59%, respectivamente, em relação ao grupo controle. Esta atividade possivelmente está relacionada à inibição de receptores específicos da nocicepção, promovendo assim, a analgesia.

Abstract

Echinodorus macrophyllus (Kunth.) Mich. is a plant of aquatic habits popularly known in Brazil as “chapéu de couro”, being used for the treatment of rheumatism and other inflammatory diseases, as a diuretic and antisyphilitic. The aim of this study was to evaluate the antinociceptive effects of essential oil of *Echinodorus macrophyllus* (EOEm), obtained through hydrodistillation for two hours, in Clevenger-type modified apparatus. The EOEm chromatographic profile analyses on gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) allowed the identification of 21 components which three are majority (dillapiole, 2-tridecanone and caryophyllene oxide). The evaluation of the antinociceptive activity of EOEm, was done using the hyperalgisia model induced by intraperitoneal (i.p.) injection of acetic acid. Swiss Webster (SW) male mice were orally (p.o.) treated with EOEm with 50 and 100 mg/kg EOEm doses (p.o.), showed significant inhibition of acetic acid-induced contortions by 65% and 59% respectively, compared with the control group. This activity possibly is related to the inhibition of nociception-specific receptors, thereby, analgesia.





Introdução

O uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais. Desta forma, usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantêm em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos. De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo, botânica, farmacologia e fitoquímica, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte medicinal natural: a flora mundial (Maciel et al., 2002; Cragg e Newman, 2013).

O Brasil, porém, não faz uso satisfatório de sua biodiversidade e conhecimento popular, necessitando de mais pesquisas sobre o assunto, para o desenvolvimento de agentes fitoterápicos (Calixto, 2005). A sustentabilidade de um país depende essencialmente de uma política consistente de educação, ciência, tecnologia e inovação, sustentada na preservação da natureza, na diversidade biológica e na exploração racional de fontes naturais necessárias para alimentação, avanço social e econômico (BrazFilho, 2010). Neste contexto, a espécie *Echinodorus macrophyllus* (Kunth.)Mich., planta de hábitos aquáticos e conhecida popularmente por “chapéu-de-couro”, “chá-mineiro”, “erva-de-pântano”, “erva-de-bugre”, “congonha-do-campo” e “erva-do-brejo” (Ferrari, 1961; Correa, 1974; Cronquist, 1981; Rego, 1988), pertence à família Alismataceae (Rataj, 1978), que é constituída de 11 gêneros e aproximadamente 75 espécies, nativas de zonas temperadas e tropicais (Haynes e Holm-Nielsen, 1994). *Echinodorus* e *Sagittaria* são os gêneros neotropicais desta família, que apresentam maior diversidade de espécies (Fasset, 1955; Rogers, 1983).

As folhas de *E. macrophyllus* são utilizadas no tratamento da sífilis, do reumatismo, como diurético (Coimbra, 1994) e em outras afecções. A toxicidade *in vitro* e *in vivo*, de seu extrato aquoso foi analisada por Lopes e colaboradores (2000), em experimentos com camundongos, sem efeito genotóxico. *E. macrophyllus* está listada na Farmacopeia Brasileira (em 1926 e 1959), havendo necessidade de promover pesquisa para a sua utilização, como medicamento fitoterápico, (Flor et al., 2011). A fitoquímica parcial da espécie detectou a presença de polifenóis, flavonoides e diterpenos (Kobayashi et al., 2000; Pimenta et al., 2000; Shigemori et al., 2002; Silva et al., 2012).

Os óleos essenciais são compostos voláteis do meta-

bolismo secundário dos vegetais e por meio do modo de extração, principalmente de destilação (vapor ou hidrodestilação) é possível obter uma variedade de moléculas voláteis, tais como terpenos e terpenoides, componentes derivados de fenol aromáticos e componentes alifáticos. Os ensaios físico-químicos *in vitro* caracterizam a maioria destes compostos como antioxidantes (Bakkali et al., 2008), apresentando propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e analgésicas (Pattnaik et al., 1997; Siani et al., 1999; Santos e Rao, 2000; Medeiros et al., 2003; Salud Pérez et al., 2011).

A dor é uma experiência consciente, uma interpretação da entrada no sistema nociceptivo influenciada pelas memórias, emocionais, fatores patológicos, genéticos e cognitivos. A dor resultante não está necessariamente relacionada linearmente para a unidade de percepção nociceptiva e nem tem exclusivamente a função vital de proteção. A dor é, portanto, uma experiência altamente subjetiva, como ilustrado pela definição dada pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (Merksey e Bogduk, 1994): “Uma experiência sensorial e emocional desagradável associada ao dano tecidual real ou potencial, ou descrito em termos de dano”. Esta patologia afeta cerca de 20% da população adulta, especialmente mulheres e idosos (Breivik et al., 2006). Entre os brasileiros a dor crônica acomete 30 a 40% da população e constitui a principal causa de absenteísmo, licenças médicas, aposentadorias por doença, indenizações trabalhistas e baixa produtividade no trabalho (Ministério da Saúde (BR), Ato Portaria Nº 19/GM, 2002).

Apesar do uso popular de infusões de folhas de *E. macrophyllus* no alívio da inflamação, não há relatos quanto à atividade analgésica. O presente estudo tem como objetivo avaliar o potencial analgésico do óleo essencial proveniente de suas folhas em modelo experimental de nocicepção induzida por estímulo químico. O óleo essencial de *E. macrophyllus* foi analisado por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas e por cromatografia em fase gasosa acoplada a detector por ionização de chama e 70,8% de seus compostos foram identificados.

Material e Métodos

Material vegetal

A planta *Echinodorus macrophyllus* (Kunth.) Micheli (Alismataceae) foi adquirida no distribuidor de Plantas Medicinais (Alcântara – Rio de Janeiro), tendo sido coletado em Nova Friburgo,





Rio de Janeiro, seguido de posterior secagem e trituração. O material foi então, ensacado e mantido em freezer a -5°C . A planta foi identificada no Herbário Bradeanum da UERJ (Rio de Janeiro – Brasil), onde uma exsicata foi depositada sob o número HB84807.

Animais

Foram utilizados neste estudo camundongos machos da linhagem de Swiss Webster (SW), de 3-4 meses, pesando 25-35 g criados no Biotério do Departamento de Bioquímica da Universidade do Estado do Rio de Janeiro ou doados pelo Instituto Vital Brazil, e mantidos em caixas plásticas apropriadas, em temperatura controlada (24°C), com ciclo de luminosidade de 12 h sendo alimentados com água e ração *ad libitum*. A higiene e desinfecção das caixas foram realizadas em dias alternados, com hipoclorito de sódio, sendo utilizada maravalha estéril. Os experimentos foram realizados seguindo os padrões éticos para o uso de animais de experimentação e aprovado pelo Comitê de Ética do IBRAG-UERJ segundo Protocolo 05/2009.

Obtenção do óleo essencial de *Echinodorus macrophyllus* (OEEem)

Para a extração do óleo essencial de *E. macrophyllus* (OEEem), 50 g de partes aéreas (secas) de *E. macrophyllus* foram reduzidas a pequenos fragmentos e submetidas à hidrodestilação, por duas horas, em aparelho de Clevenger modificado. A fração volátil foi extraída da água de coação por partição líquido-líquido com diclorometano, sendo a fração orgânica submetida à secagem com sulfato de sódio anidro.

Análise por cromatografia com fase gasosa (CG-DIC)

Análise quantitativa do OEEem foram realizadas em cromatógrafo CP-3380-FID Varian usando coluna capilar de gel de sílica fundida CP-SIL 8 CB, CP 8752, Varian (30m x 0,32mm x 0,25 μm). A programação de temperatura usada foi: injetor 260°C , detector 290°C e coluna aquecida de 50°C até 290°C ($3^{\circ}\text{C}/\text{min}$). O OEEem foi solubilizado em diclorometano, sendo injetado 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Hidrogênio e ar sintético foram usados como gases de arraste, com fluxo de 1,0 mL/min.

Análise por Cromatografia com fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

A análise qualitativa do OEEem foi efetuada em equipamento Shimadzu 17A - Shimadzu QP 2010 Plus,

usando coluna capilar de gel de sílica fundida Rtx-5MS, da marca Restek (30 m x 0,32 mm x 0,25 μm), sob as mesmas condições citadas para a análise por CG-DIC.

Identificação das substâncias do óleo essencial

A identificação dos componentes do óleo essencial de partes aéreas de *E. macrophyllus* foi realizada pela comparação dos seus índices de retenção e espectros de massas (MS) com dados da literatura publicados e com a biblioteca WILEY 275 e NIST 3.0, fornecidas pelo sistema CG-EM (Shimadzu 17A - Shimadzu QP 2010Plus). Os resultados também foram confirmados comparando a ordem de eluição dos compostos com seus índices de retenção relativo relatados na literatura (Adams, 2001). Os índices de retenção foram calculados para todos os componentes voláteis utilizando os dados de retenção de n-alcanoslineares com C9-C30, conforme descrito por Holler e colaboradores (2009).

Modelo de hiperalgesia induzida por injeção intraperitoneal (i.p.) de ácido acético

Com objetivo de avaliar o efeito antinociceptivo do OEEem, foi realizado o modelo de contorção abdominal. Os animais foram previamente tratados com OEEem (v.o.) 1 h antes da injeção i.p. de ácido acético 0,6% v/v (HAc; 10 $\mu\text{L}/\text{g}$ peso corporal (p.c.)) de acordo com Koster e colaboradores (1959). As contorções, definidas como uma sequência que se inicia com o arqueamento do lombo, contração do abdômen, contorção do tronco e/ou pélvis, terminando geralmente com a extensão dos membros foram observadas após 5 min da injeção do ácido, por um período de 10 min (Loro et al., 1999).

Análise estatística

O Teste One-way ANOVA seguido de Tukey foi utilizado para analisar os dados. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes (Dawson-Saunders e Trapp, 1994). Foram utilizados os programas Microsoft® Office Excel e GraphPad Prism® 5 for Windows.

Resultados

Perfil cromatográfico do OEEem por CG-EM

As substâncias dilapiol, 2-tridecanona e óxido de cariofileno foram identificadas como as majoritárias do óleo essencial de *E. macrophyllus* (Tabela 1).



**Tabela 1 – Identificação dos constituintes do óleo essencial de *E. macrophyllus*por CG-EM**

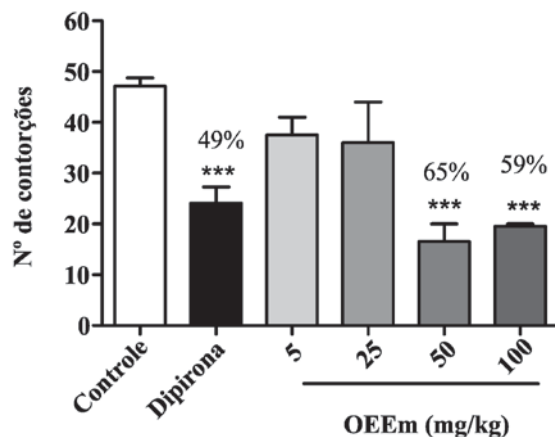
	Substância	^a IR ^{lit}	^b IR	HD%
1	2-undecanona	1296	1294	0,27
2	β-cariofileno	1419	1419	1,49
3	α-humuleno	1455	1455	0,36
4	geranilacetona	1455	1457	0,94
5	(E)-β-ionona	1489	1489	0,57
6	2-tridecanona	1496	1498	14,57
7	miristicina	1520	1530	0,72
8	elimicina	1557	1563	0,50
9	(E)-nerolidol	1563	1567	0,60
10	ácido dodecanoico	1567	1572	0,75
11	óxido de cariofileno	1581	1585	7,09
12	1,2-epóxido de humuleno	1608	1611	1,15
13	dilapiol	1621	1631	24,03
14	α-cadinol	1654	1659	0,41
15	apiol	1680	1687	0,68
16	heptadecano	1700	1701	5,45
17	heptadecanal	1716	1714	0,98
18	ácido palmítico	1968	1971	6,52
19	palmitato de etila	1993	1997	0,37
20	octadecanol	2078	2086	2,16
21	(Z)-fital	2114	2116	1,19

% Somatório das substâncias identificadas: 70,8; ^aIR^{lit}: Índice de retenção da literatura (Adams, 2001); ^bIR: Índice de retenção calculado; HD: Hidrodestilação.

Modelo de hiperalgesia induzida por injeção intraperitoneal (i.p.) de ácido acético

O tratamento com o OEE apresentou inibição significativa no número de contorções induzidas por ácido acético de 65% e 59% nas respectivas doses de 50 e 100 mg/kg por peso corporal em relação ao grupo controle (Figura 1).

Figura 1: Efeito do tratamento com OEE no modelo de contorção abdominal induzido por ácido acético. Foram administradas (v.o.) as doses de 5, 25, 50 e 100 mg OEE/kg p.c. em camundongos machos SW (n=5/grupo). Os resultados são estatisticamente significativos quando comparados com o controle tratado com veículo e dipirona 50 mg/kg (v.o.) 60 min antes da injeção de ácido acético 0,6% (i.p.). *p <0,05, **p <0,01 e ***p <0,001 em relação ao grupo controle (teste ANOVA seguido de Tukey).





Discussão

A espécie *Echinodorus macrophyllus*, uma planta conhecida popularmente como chapéu de couro apresenta atividade anti-inflamatória sugerida pelo uso na medicina popular. Castro (2004) relatou o potencial anti-edematogênico e antinociceptivo do EAE e Fernandes (2006) observou o potencial anti-inflamatório neurogênico, o que serviu de base para o presente estudo.

O óleo essencial de *Echinodorus macrophyllus* (chapéu-de-couro) foi extraído das partes aéreas da planta, com rendimento de 0,01% a partir de 50 g de material vegetal seco. A análise do OEE por CG-EM possibilitou a identificação de 21 componentes, totalizando 70,8% de substâncias identificadas, sendo majoritários o dilapiol, a 2-tridecanona e o óxido de cariofileno. Na literatura encontram-se descritos os efeitos biológicos para tais substâncias: o dilapiol, um arilpropanoide bastante conhecido, apresenta propriedade inseticida e sinergismo com outras substâncias (Fazolin et al., 2005); a 2-tridecanona é um metabólito especial secretado pelos tricomas glandulares de folhas dos vegetais (Gilardón, et al., 2001). Suas funções estão relacionadas com a sobrevivência da espécie: a toxicidade e repelência, que são mecanismos de defesa (herbivoria, predatismo e microrganismos) e a atração de polinizadores (Maxwell e Jennings, 1980); o óxido de cariofileno é descrito na literatura por suas atividades anti-inflamatória, analgésica e anti-úlceras (Chavan et al., 2010; Lima et al., 2012).

A fim de comprovar o efeito biológico do OEE, utilizou-se o modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético, adaptado de Koster e colaboradores (1959), o qual é um método utilizado rotineiramente e sensível para o *screening* da eficácia de agentes analgésicos periféricos e centrais (Collier et al., 1963). A hiperalgisia causada pelo ácido acético é explicada devido à liberação e aumento do nível de vários mediadores, como a histamina e serotonina que atuam por estimulação dos neurônios nociceptivos periféricos (Cui et al., 2010).

Para o tratamento com a dose 50 mg/kg de OEE, o efeito antinociceptivo neste modelo apresentou 65% de inibição das contorções, enquanto que a dipirone, escolhida como droga padrão, inibiu em média 49%. Este resultado mostra-se relevante quando comparado com dados da literatura em que, os óleos essenciais de "candeiro" (*Vanillosmopsis arborea*) e "sambacaitá" ou "canudinho" (*Hyptis pectinata* (L.) Poit), que também apresentam em sua composição cariofileno, mostraram porcentagem de inibição de 31 e 48% respectivamente, observada para o tratamento com a dose de 100 mg/kg (Leite et al., 2011; Raymundo et al., 2011), para o modelo de contorção abdominal induzido por ácido acético.

Podemos sugerir que a atividade antinociceptiva observada no modelo de contorções abdominais pode estar relacionada à inibição da liberação de mediadores sem resposta ao agente de nocicepção química (ácido acético), como a bradicinina, SP, prostaglandinase, algumas citocinas como Interleucina 1β (IL-1β), Fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e Interleucina 8 (IL-8) (Correa et al., 1996; Ribeiro et al., 2000; Ikeda et al., 2001; Vanderlei et al., 2010).

Referências

- Adams, R.P. 2001 - *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Allured Publishing Corporation. Carol Stream.
- Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D. e Idaomar, M. 2008 - Biological effects of essential oils - a review. *Food and Chemical Toxicology*, v. 46, p.446–475.
- Braz Filho, R. 2010 - Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Química Nova*, v. 33 p. 229–239.
- Breivik, H.; Collett, B.; Ventafridda, V.; Cohen, R. e Gallacher, D. 2006 - Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. *European Journal of Pain*, v.10, p. 287–333.
- Calixto, J.B. 2005 - Twenty-five years of research on medicinal plants in latinamerican: A Personal viewer. *Journal of Ethnopharmacology*, v.100, p. 131–134.
- Castro, F.L. 2004 - *Atividade antiedematogênica e antinociceptiva do extrato aquoso de folhas de Echinodorus macrophyllus*. Monografia de conclusão da graduação em Biologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- Chavan, M.J.; Wakte, P.S. e Shinde, D.B. 2010 - Analgesic and anti-inflammatory activity of caryophyllene oxide from *Annonasquamosa* L. bark. *Phytomedicine*, v.17, p.149–151.
- Coimbra, R. 1994 - *Manual de fitoterapia*. Editora CEJUP. Belém.
- Collier, H.O.J.; Dineen, L.C.; Johnson, C.A. e Schneider, C. 1963 - The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British Journal of Pharmacology*, v. 32, p. 295–310.
- Correa, C.R.; Kyke, D.J.; Chakraverty, S. e Calixto, J.B. 1996 - Antinociceptive profile of the pseudopeptide B2 bradykinin and receptor antagonist NPC18688 in mice. *British Journal of Pharmacology*, v. 8, p. 117–552.





- Correa, P.M. 1974. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Ministério de Agricultura. Rio de Janeiro.
- Cragg, G.M.; Newman, D.J. 2013 - Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochimica and Biophysica Acta*. Disponível em:(<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.008>). Acesso em 15 abr. 2013.
- Cronquist, A. 1981 - *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University. New York.
- Cui, J.; Hu, W.; Cai, Z.; Liu, Y.; Lis, S.; Tao, W. e Xiang, H. 2010. New medicinal properties of mangostins: analgesic activity and pharmacological characterization of active ingredients from the fruit hull of *Garcinia mangostana* L. *Pharmacology and Biochemical Behavior*, v. 95, p.166–172.
- Dawson-Saunders, B., Trapp, R. G. 1994 - *Basic & Clinical Biostatistics*. Editora Appleton & Lange. Connecticut.
- Fasset, N.C. 1955 - *Echinodorus* in the American tropics. *Rhodora*, v. 57, p.133–156, p.174–188, p. 202–212.
- Fazolin, M.; Estrela J.L.V.; Catani, V.; Lima M.S. e Alécio, M.R. 2005 - Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Ceratomyxomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). *Neotropical Entomology*, v.34, p. 485–489.
- Fernandes, D.C. 2006 - Análise da atividade anti-inflamatória neurogênica do extrato aquoso de folhas de *Echinodorus macrophyllus* e fitoquímica. Monografia de Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Castelo Branco.
- Ferrari, J.M. 1961. *Contribuição ao estudo das Monocotyledoneae medicinais indígenas da Zona Metalúrgica do Estado de Minas Gerais*. Belo Horizonte, 126 p. Tese (Doutorado), Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Flor, R.V.; Campos, M.A.A.; Solano, A.G.R.; Jokl, L. e Dantas-Barros, A.M. 2011 - Drying of *Echinodorus macrophyllus* and autoclaving and lyophilization of the fluid-extract: effects on the pharmacological composition. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, p. 518–524.
- Gilardón, E.; Pocovi, M.; Hernández, C.; Collavino, G. e Olsen A. 2001 - Papel da 2-tridecanona e dos tricomas glandulares tipo VI na resistência do tomateiro a *Tuta absoluta*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 36, p. 929–933.
- Haynes, R.R. e Holm-Nielsen, L.B., 1994 - The Alismataceae. *Flora Neotropical*, v. 64, p. 1–112.
- Holler, F.J.; Skoog, D.A. e Crouch, S. R. 2009 - *Princípios de análise instrumental*. Editora Artmed. Porto Alegre.
- Ikeda, Y.; Ueno, A.; Naraba, H. e Oh-Ishi, S. 2001 - Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanooids in the acid-induced writhing responses of mice. *Life Science*, v. 69, p. 2911–2919.
- Kobayashi, J.; Sekiguchi, M.; Shigemori, H. e Obsaki, A. 2000 - Echinophyllins A and B, novel nitrogen-containing clerodane diterpenoids from *Echinodorus macrophyllus*. *Tetrahedron Letters*, v. 41, p.2939–2943.
- Koster, R.; Anderson, M. e De Beer, E.J. 1959 - Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings*, v. 18, p. 412.
- Leite, G.O., Leite, L.H. I.; Sampaio, R.S.; Araruna, M.K.A.; Rodrigues, F.F.G.; Menezesa, I.R.A.; Costa, J.G.M. e Campos, A.R. 2011 - Modulation of topical inflammation and visceral nociception by *Vanillosmopsis borea* essential oil in mice. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, v. 1, p. 216–222.
- Lima, D.K.S.; Ballico, L.J.; Lapa, F.R.; Gonçalves, H.P.; Souza L.M.; Iacomini M.; Werner, M.F.P.; Baggio, C.H.; Pereira, I.T.; Silva L.M.; Facundo, V.A. e Santos, A.R.S. 2012 - Evaluation of the antinociceptive, anti-inflammatory and gastric antiulcer activities of the essential oil from *Piper aleyreanum* C. DC in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 142, p. 274–282.
- Lopes, C.L.; Albano, F.; Laranja, G.A.T.; Alves, L.M.; Martins e Silva, L.F.; De Souza, G.P.; Araújo, I.M.; Nogueira-Neto, J.F.; Felzenszwalb, I. e Kovary, K. 2000 - Toxicological evaluation by in vitro and in vivo assays of an aqueous extract prepared from *Echinodorus macrophyllus* leaves. *Toxicology Letters*, v. 116, p. 189–198.
- Loro, J.F.; del Rio, I. e Pérez-Santana, L. 1999 - Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Opuntia dillenii* aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 67, p. 213–218.
- Maciel, M.A.M.; Pinto, A.C.; Veiga Jr., V.F.; Grynberg, N.F. e Echevarria, A. 2002 - Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, v. 25, p. 429–438.
- Maxwell, F.G. e Jennings, P. 1980 - *Breeding plants resistant to insects*, p.682. J. Wiley. New York.
- Medeiros, J.R.; Campos, L.B.; Mendonça, S.C.; Davin, L.B. e Lewis, N.G., 2003. Composition and antimicrobial activity of the essential oils from invasive species of the Azores, *Hedychium gardnerianum* and *Pittosporum undulatum*. *Phytochemistry*, v. 64, p. 561–565.





- Merksey, H. e Bogduk, N. 1994 - *Classification of Chronic Pain*. International Association for the Study of Pain Press.Seattle.
- Ministério da Saúde (BR). Ato Portaria Nº 19/GM de 03 de janeiro de 2002. Disponível em: <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2002>. Acesso em 17 ago. 2009.
- Pattnaick, S.; Subramanyam, V.R.; Bapaji, M. e Kole, C.R. 1997 - Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios*, v. 89, p. 39–46.
- Pimenta, D.S., Figueiredo, M.R. e Kaplan, M.A.C. 2000 - Chemical studies on cultivation of *Echinodorus grandiflorus*(Cham. &Schl.) Mich. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 72, p. 294.
- Rataj, K. 1978 - Alismataceae of Brazil. *Acta Amazônica*, v. 8, p. 1–54.
- Raymundo, L.J.; Guilhon, C.C.; Alviano, D.S.; Matheus, M.E.; Antonioli, A.R., Cavalcanti, S.C.; Alves, P.B., Alviano C.S. e Fernandes, P.D. 2011 - Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of the *Hyptis spectinata* (L.) Poit essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, v.134, p. 725–732.
- Rego, S.C.A. 1988 - *Alismataceae*. Dissertação (Mestrado). Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Ribeiro, R.A.; Vale, M.L.; Thomazzi, S.M.; Paschoalato, A.B.; Poole, S. e Ferreira, S.H. 2000 - Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *European Journal of Pharmacology*, v. 387, p. 111–118.
- Rogers, G.K. 1983 - The Alismataceae in the Southeastern United States. *Journal of Arnold Arboretum*, v.64, p.383–420.
- Salud Pérez,G.;Miguel Zavala, S.; Lucina Arias, G.eMiguel Ramos, L. 2011 - Anti-inflammatory activity of some essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, v.23, p. 38–44.
- Santos, F.A. e Rao, V.S., 2000 - Anti-inflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. *Phytotherapy Research*, v. 14, p. 240–244.
- Shigemori, H.; Shimamoto, S.; Sekiguchi, M.; Ohsaki, A. e Kobayashi, J. 2002 - Echinodolides A and B, new cembranoid diterpenoids with an eight-membered lactone ring from the leaves of *Echinodorus macrophyllus*. *Journal of Natural Products*, v. 65, p. 82–84.
- Siani, A.C.; Ramos, M.F.S.; Menezes-de-Lima Jr., O.; Ribeiro-dos-Santos, R.; Fernandez-Ferreira, E.; Soares, R.O.A.; Rosas, E.C.; Susunaga, G.S.; Guimarães, A.C.; Zoghbi, M.G.B. e Henriques, M.G.M.O. 1999 - Evaluation of anti-inflammatory related activity of essential oils from the leaves and resin of *Protium*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 66, p. 57–69.
- Silva, T.M.; Dias, M.D.; Pereira, M.T.; Takahashi, J.A.; Ferraz, V.P.; Piló-Veloso, D.e Alcântara, A.F.C. 2012 - Effect of the γ -radiation on phenol fractions obtained from the leaves of *Echinodorus macrophyllus* Mich. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 81, p. 22–26.
- Vanderlei, E.S.O.; Patoilo, K.K.N.R.; Lima, N.A.; Lima, A.P.S.; Rodrigues, J.A.; Silva, L.M.C.M.; Lima, M.E.P.; Lima, V. e Benevides, N.M.B. 2010 - Antinociceptive and anti-inflammatory activities of lectin from the marine green alga *Caulerpa cupressoides*. *International Immunopharmacology*, v. 10, p. 1113–1118.

Recebido em Dezembro de 2012. Aceito em março de 2013.

