

**Avaliação das propriedades analgésicas de *Anaxagorea dolichocarpa*  
Sprague & Sandwith LC****Evaluation of analgesic properties of *Anaxagorea dolichocarpa* Sprague &  
Sandwith LC**

DOI:10.34119/bjhrv3n1-029

Recebimento dos originais: 30/11/2019

Aceitação para publicação: 22/01/2020

**Erica Larissa Oliveira Gripp**

Discente do Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Instituição: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Endereço: BR465, Km 07, Cidade Universitária, Seropédica – RJ, 23890-000. Brasil.

**Lilian Uchoa Carneiro**

Discente de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Instituição: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Endereço: BR465, Km 07, Cidade Universitária, Seropédica – RJ, 23890-000 Brasil.

**Isabela de Souza Pinto Pereira**

Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Endereço: Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes - RJ, 28013-602. Brasil.

**Maria Raquel Garcia Vega**

Doutora em Química pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais

Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Endereço: Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes - RJ, 28013-602. Brasil.

**Bruno Guimarães Marinho**

Doutor em Farmacologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro

Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da UFRRJ

Instituição: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Endereço: BR465, Km 07, Cidade Universitária, Seropédica – RJ, 23890-000. Brasil.

**RESUMO**

*Anaxagorea dolichocarpa* (AD) é uma planta nativa no Brasil, e é conhecida popularmente como aratiaeum brabo e paixinho. É relatado o uso tradicional das folhas, cascas do caule e frutos contra gripes e resfriados. Há relatos de isolamento dos alcaloides sampangine, eupolauramine, ibiline 1 e identificação das classes dos taninos, alcaloides, cumarinas, terpenos, esteroides, flavonoides e fenóis. No presente estudo, o efeito antinociceptivo de AD foi investigado. A atividade antinociceptiva foi avaliada através dos modelos de contorções

abdominais induzida por ácido acético, formalina, imersão da cauda e campo aberto em camundongos *Swiss*. A fração em clorofórmio de folhas e as frações de caule mostraram efeito sobre as contorções abdominais, na imersão da cauda e nas 2 fases da formalina, enquanto as frações em acetato de etila e hexano de folhas mostraram efeito sobre as contorções abdominais e somente na 2ª fase da formalina. Nenhuma fração comprometeu a função motora dos animais no modelo de campo aberto. Os extratos e frações de caule e folhas de AD apresentam propriedades antinociceptivas nos modelos de dor aguda induzida por agentes químicos e térmicos envolvendo ação sobre o sistema nervoso central e provável atividade anti-inflamatória.

**Palavras-chave:** Anaxagorea, nocicepção aguda, camundongos, antinociceptivo

## **ABSTRACT**

*Anaxagorea dolichocarpa* (AD) is a native plant in Brazil, and is popularly known as aratiaem brabo and paixinho. The traditional use of leaves, stem barks and fruits against colds and flu is reported. Isolation of sampangine, eupolauramine, ibiline 1 and identification of tannin, alkaloid, coumarin, terpene, steroid, flavonoid and phenol classes have been reported. In the present study, the antinociceptive effect of AD was investigated. Antinociceptive activity was evaluated using acetic acid-induced abdominal writhing, formalin, tail immersion and open field models in Swiss mice. Leaf fraction in chloroform and stem fractions showed effect on acetic acid-induced abdominal writhing, tail immersion and in the 2 phases of formalin, while leaf fraction in ethyl acetate and hexane showed effect on acetic acid-induced abdominal writhing and only in the second phase of formalin. No fraction compromised the motor function of animals in the open field model. *A. dolichocarpa* stem and leaf extracts and fractions show antinociceptive properties in models of acute pain induced by chemical and thermal agents involving action on the central nervous system and probable anti-inflammatory activity.

**Keywords:** Anaxagorea, acute nociception, mice, antinociceptive

## **1 INTRODUÇÃO**

A dor é um fenômeno complexo resultante da modulação de diversos mecanismos centrais e periféricos (Olesen et al., 2012). Neste contexto, a dor constitui um alarme que consiste na preservação do organismo, reduzindo o disparo da dor e limitando as consequências dos danos. A presença da dor é devastadora, sendo debilitante em alguns casos, limitando assim a produtividade e reduzindo o bem-estar (Millan, 1999).

Os tratamentos terapêuticos existentes muitas vezes são ineficientes, além disso existem algumas restrições em relação a sua segurança, e a presença de efeitos adversos importantes (Kennedy, 2007). Estes fatos explicam o aumento no interesse por novos tratamentos no controle de condições algicas e inflamatórias (Mao, 2009).

O gênero *Anaxagorea* pertence à família Annonaceae e contém 26 espécies descritas até o momento na literatura distribuídas na América Central, América do Sul e Ásia (Maas e Westrar, 1984).

A espécie *Anaxagorea dolichocarpa* Sprague & Sandwith, é uma árvore de aproximadamente 5,5 m de altura, nativa no Brasil, e é conhecida popularmente como aratiaem brabo e paixinho (Jurgens et al., 2000). É relatado o uso tradicional das folhas, cascas do caule e frutos contra gripes e resfriados. A casca é usada como um ingrediente do curare na Colômbia e Equador, já na Guiana é usada como linha de pesca, para fazer corda, cestas e fios dentais. No Suriname a fibra da casca é utilizada para fabricação de cestas; as folhas e cascas usadas contra dores de cabeça (Maas e Westrar, 1984)

Na literatura são encontrados estudos com as partes do caule e cascas do caule, além de análises de substâncias voláteis através dos óleos essenciais das folhas, caules, frutos e flores. Há relatos de isolamento dos alcaloides sampangine, eupolauramine, ibiline 1 e identificação das classes dos taninos, alcaloides, cumarinas, terpenos, esteroides, flavonoides e fenóis. As atividades biológicas já avaliadas com extratos ou substâncias isoladas da espécie são antitumoral (linhagens celulares K562, OVCAR-8, SF-295, HCT-116), antiviral (EMCV), antioxidante e antileishmania (Brandão et al., 2011; Almeida et al., 2011; Lucio et al., 2011; Pinheiro et al., 2016; Andrade et al., 2007; Fournier et al., 1994).

Com base no exposto acima, o presente estudo pretendeu examinar os efeitos dos extratos e frações de folhas e caule de *Anaxagorea dolichocarpa* nos modelos de nocicepção aguda em camundongos.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 PLANTA**

Caules e folhas de *Anaxagorea dolichocarpa* Sprague & Sandwith foram coletadas na Reserva Biológica da União (22°27'30"S; 42°02'15"O) em Rio das Ostras, no bioma Mata Atlântica, em julho e setembro de 2015. A identificação botânica foi realizada pela professora Adriana Lobão no Jardim Botânico do Rio de Janeiro. A exsicata está depositada no Herbário do Centro de Biociência e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, sob o número H9771.

### **2.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO E FRAÇÕES DE ANAXAGOREA DOLICHOCARPA**

As folhas (709,8 g) e caules (1981,5 g) foram secas em estufa com circulação de ar contínua à 40 °C e trituradas. Em seguida, o material vegetal foi submetido à maceração estática até exaustão em etanol/água (9:1) à temperatura ambiente com troca de solventes semanal. Os extratos obtidos foram submetidos a evaporação à pressão reduzida em rota evaporador e liofilizados (folhas 54,83 g e caules 49,75 g).

Parte dos extratos hidroalcoólicos foram ressuspensos em metanol/água (1:1) e, em seguida, submetidos à partição com os seguintes solventes: hexano (folhas 10,55 g e caules 4,81 g), clorofórmio (folhas 10,43 g e caules 8,40 g) e acetato de etila (folhas 5,50 g e caules 1,13 g). Cada partição foi concentrada a pressão reduzida no rota-evaporador.

### 2.3 ANIMAIS

Camundongos machos da linhagem *Swiss* (20-22g) foram obtidos a partir do Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e um ciclo claro/escuro de 12h, com livre acesso a comida e água. A ração foi retirada 8h antes do início do experimento para evitar possível interação fármaco-alimento. O protocolo deste estudo foi aprovado pelo Comitê de ética para Uso de Animais da UFRRJ (CEUA – UFRRJ), sob o número 023/2016.

### 2.4 TRATAMENTOS

Os extratos brutos de folhas (FB) e caule (CB) de *A dolichocarpa* foram administradas na dose de 500 mg/kg, enquanto as suas frações (acetato de etila (FA-folhas e CA-caule), clorofórmio (FC-folhas e CC-caule) e hexano (FH-folhas e CH-caule)) foram administradas na dose de 100 mg/kg; ambas por via oral. Indometacina, ácido acetilsalicílico e morfina foram usados como controles positivos. A indometacina foi administrada na dose de 10 mg/kg, o ácido acetilsalicílico (AAS) na dose de 100 mg/kg e a morfina na dose de 3 mg/kg, ambas por via oral. O grupo controle consiste em animais que receberam solução salina, enquanto o grupo veículo consiste em animais tratados com solução de dimetil sulfóxido (DMSO) à 0,5%. As doses de morfina e AAS foram obtidas de Marinho et al., 2011 e a dose de indometacina foi obtida de Silva et al., 2017.

### 2.5 MODELO DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO

Modelo usado para triagem da atividade antinociceptiva (Koster et al., 1959). As contorções abdominais foram induzidas pela administração intraperitoneal de 0,01 mL/g de ácido acético (0,8%). A solução de ácido acético foi injetada 60 minutos após a administração oral dos extratos, solução salina, veículo ou indometacina. A contagem do número de contorções foi realizada em uma câmara de observação imediatamente após a injeção e permaneceu por um período de 30 minutos. Contrações abdominais fortes, alongamento de todo o corpo do animal, seguido de alongamento dos membros posteriores e contato do abdômen com o piso do recipiente, foi o padrão estabelecido de contorção abdominal.

**2.6 MODELO DE FORMALINA**

Modelo usado na avaliação da dor inflamatória e não-inflamatória (Hunnskaar et al., 1986). Neste modelo 0,02 mL de solução de formalina (2,5%) foi injetada em uma das patas traseiras 60 min após a administração oral de solução salina, veículo, morfina, AAS e as frações. Posteriormente, os animais foram colocados em uma câmara de contagem, onde foi verificado o tempo em segundos em que os animais permaneceram lambendo a pata administrada com a solução de formalina. A contagem foi realizada em 2 etapas: a primeira entre 0 e 5 min após a administração da solução e a segunda entre 15 e 30 min.

**2.7 MODELO DE IMERSÃO DA CAUDA**

Este modelo foi utilizado para avaliar a atividade antinociceptiva neurogênica (Ben-Bassat et al., 1959). Neste modelo, o animal foi imobilizado em um recipiente cilíndrico e a cauda foi imersa (aproximadamente 2 cm) em banho-maria a uma temperatura de  $50 \pm 1$  ° C. O tempo (em segundos) que o animal levou para remover a cauda foi medida, e denominada de tempo de latência (TL). As duas primeiras medidas foram realizadas antes da administração das substâncias (sendo nomeadas medidas de controle). Após essas medidas de controle, foram realizadas outras 6 medidas, com intervalos de 20 minutos entre elas, após a administração de solução salina, veículo, morfina e as frações. Para evitar danos aos tecidos, foi estabelecido um tempo de corte de 10 s. A média das medidas de controle foi denominada "linha de base" (LB). O resultado foi expresso como porcentagem de aumento na linha de base (ALB%) de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ ALB} = \frac{100 - \text{TL}}{\text{Tempo de Corte} - \text{LB}} \times 100$$

Tempo de Corte – LB

A área sob a curva (ASC) das respostas de 20 a 120 minutos após a administração das substâncias foi calculada de acordo com a seguinte fórmula, com base na regra trapezoidal:

$$\text{ASC} = 20 \times \text{ALB} [(20 \text{ min}) + (40 \text{ min}) + \dots + (120 \text{ min}) / 2].$$

**2.8 MODELO DE CAMPO ABERTO**

Esse modelo foi realizado conforme descrito por Torres Lista et al. (2019) para avaliar o nível de atividade locomotora em camundongos. Os camundongos foram colocados diariamente na câmara de observação para aclimação, permitindo a livre exploração do meio ambiente. No teste, 60 minutos após a administração oral de solução salina, veículo, morfina e frações; os camundongos foram colocados individualmente no centro da câmara de observação

e monitorados com uma câmera de vídeo conectada a um computador e analisados com o software ANY-maze (Stoelting, Wood Dale, IL, EUA) por um período de 5 min. A atividade espontânea foi quantificada pelo número de quadrados percorridos neste período.

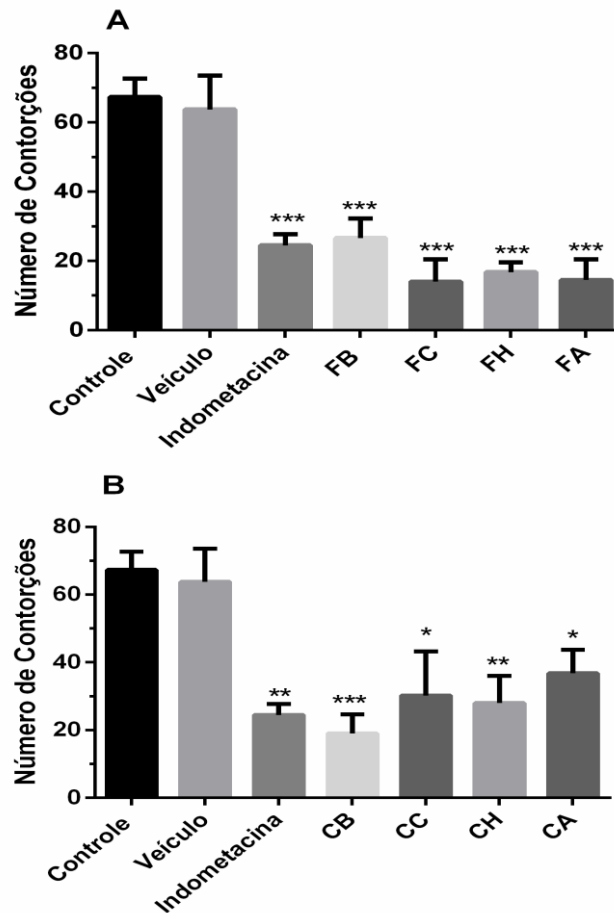
### **3 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Todos os grupos experimentais foram formados por 6 a 8 animais. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (MEV). No teste de Kolmogorov - Smirnov, a distribuição dos dados foi considerada normal. A significância estatística entre os grupos foi determinada pela análise de variância de uma via (ANOVA), seguida do teste de Bonferroni para contorções abdominais induzidas por ácido acético, formalina e campo aberto e ANOVA de duas vias seguido por teste de Bonferroni para o teste de imersão da cauda. Valores de p inferiores a 0,05, 0,01 e 0,001 foram considerados estatisticamente significativos.

### **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No presente estudo, nós avaliamos o efeito antinociceptivo dos extratos brutos de caule e folhas de *Anaxagoreae dolichocarpa*, além das frações obtidas a partir de acetato de etila, clorofórmio e hexano, usando modelos de dor aguda em camundongos.

O modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético é um modelo sensível ao uso de medicamentos antinociceptivos e anti-inflamatórios. Neste modelo foi possível observar que a indometacina, além de todos os extratos e frações testados de *A. dolichocarpa* apresentaram efeito neste teste. Enquanto a indometacina apresentou uma redução de 63% no número de contorções, as frações de folhas se mostraram mais efetivas que ela, reduzindo 79%, 75% e 78% o número de contorções para as frações em clorofórmio, hexano e acetato de etila, respectivamente [ $F(6,35) = 14,85$ ;  $P < 0,001$ ]. Porém a atividade demonstrada neste modelo é inespecífica, pois a contorção abdominal induzida por ácido acético é comumente utilizada como um modelo de triagem, por não ser seletivo para estudos antinociceptivos (Collier et al., 1968). A injeção intraperitoneal (i.p.) do ácido acético induz, indiretamente, a liberação de mediadores endógenos, tais como a substância P, bradicininas, prostaglandinas, bem como das citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$ , estimulando assim nociceptores periféricos e neurônios sensíveis a anti-inflamatórios não-esteroidais (AINE'S), opioides e outras drogas de ação central. (Dickenson e Besson, 1997; Bukhari et al., 2013).



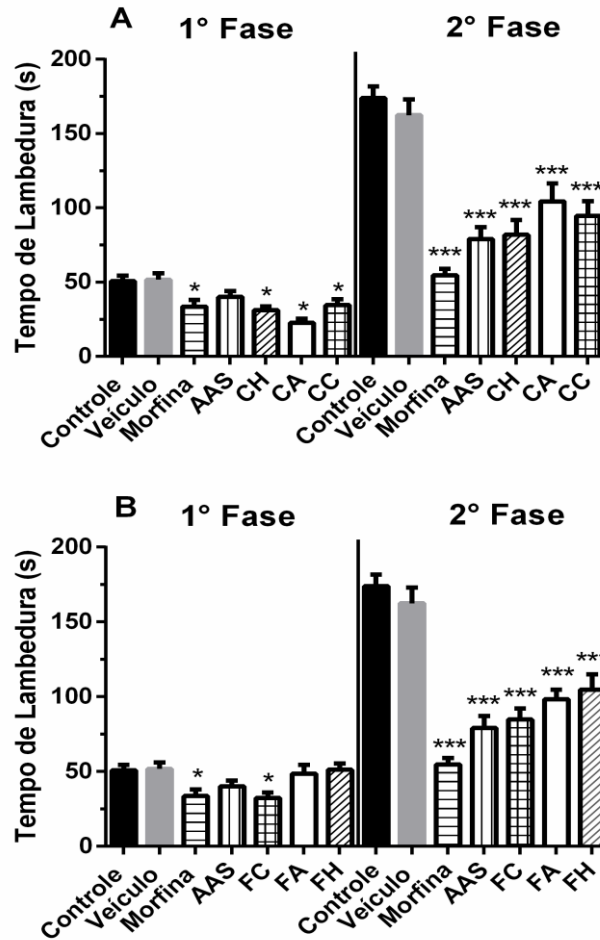
**Figura 1** – Efeitos dos extratos brutos de caule e folhas de *Anaxagoreae dolichocarpa* e suas frações no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Os camundongos foram pré-tratados com solução salina, veículo, indometacina (10 mg/kg), extratos brutos (FB e CB – 500 mg/kg) e frações (FA, FH, FC, CA, CH e CC – 100 mg/kg) 60 min antes da injeção de ácido acético. Em A, os resultados referentes ao extrato e frações das folhas. Em B, os resultados referentes ao extrato e frações do caule. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (n = 6-8). A significância estatística foi calculada por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01 e \*\*\*p < 0,001 quando comparando os grupos veículo, indometacina, extratos e frações com o grupo controle.

Para um melhor esclarecimento da atividade dos extratos e frações de *A. dolichocarpa*, executamos o modelo de nocicepção induzida por formalina, ou chamado modelo da formalina. A vantagem deste modelo sobre os outros é o de poder discriminar a ação de compostos sobre dois tipos de dor, a dor neurogênica e a inflamatória, devido a ser um modelo bifásico. A fase neurogênica é a primeira fase do modelo que se inicia logo após a injeção da formalina, e se estende por 5 minutos. É caracterizada pela estimulação direta dos nociceptores aferentes do

tipo C, mediada por TRPA1, envolvendo em parte as fibras do tipo A $\delta$  e associado também a liberação de óxido nítrico e substância P. (Fischer et al., 2014; Silva et al., 2013). O período de 5 a 15 minutos é chamado de quiescência (período de repouso), onde ocorre inibição da transmissão nociceptiva através de circuitos supraespinhais e espinhais (Hunnskaar e Hole, 1987). Na 1<sup>o</sup> fase somente as frações em clorofórmio, hexano e acetato de etila do caule e a fração em clorofórmio das folhas apresentaram redução do tempo de lambedura, inibindo em 38%, 55%, 31% e 36%, respectivamente. A morfina apresentou redução de 34%.

A segunda fase do modelo da formalina é denominada inflamatória, e ocorre durante o tempo de 15 a 30 min. Está relacionada à liberação de diversos mediadores pró-inflamatórios como a bradicinina, histamina, substância P, serotonina e prostaglandinas, que interagem com seus respectivos receptores para manifestação da dor inflamatória. Fármacos de ação central, como a morfina que é um fármaco analgésico opioide de ação central conhecida, reduzem o tempo de lambedura nas duas fases, demonstrando então que o resultado da inibição em ambas as fases caracteriza uma ação antinociceptiva central. Anti-inflamatórios, como o ácido acetilsalicílico, inibem somente a segunda fase, sugerindo atividade antinociceptiva periférica inflamatória (Fischer et al., 2008). Na 2<sup>o</sup> fase todas as frações reduziram o tempo de lambedura, além da morfina e do ácido acetilsalicílico. Os percentuais de redução foi de 52%, 40% e 45% para as frações em hexano, acetato de etila e clorofórmio de caule, respectivamente [ $F(13,70) = 45,27$ ;  $P < 0,001$ ]; e de 51%, 56% e 39% para as frações em clorofórmio, acetato de etila e hexano de folhas, respectivamente [ $F(13,70) = 47,97$ ;  $P < 0,001$ ]. A redução foi de 66% e 54% para morfina e ácido acetilsalicílico, respectivamente.

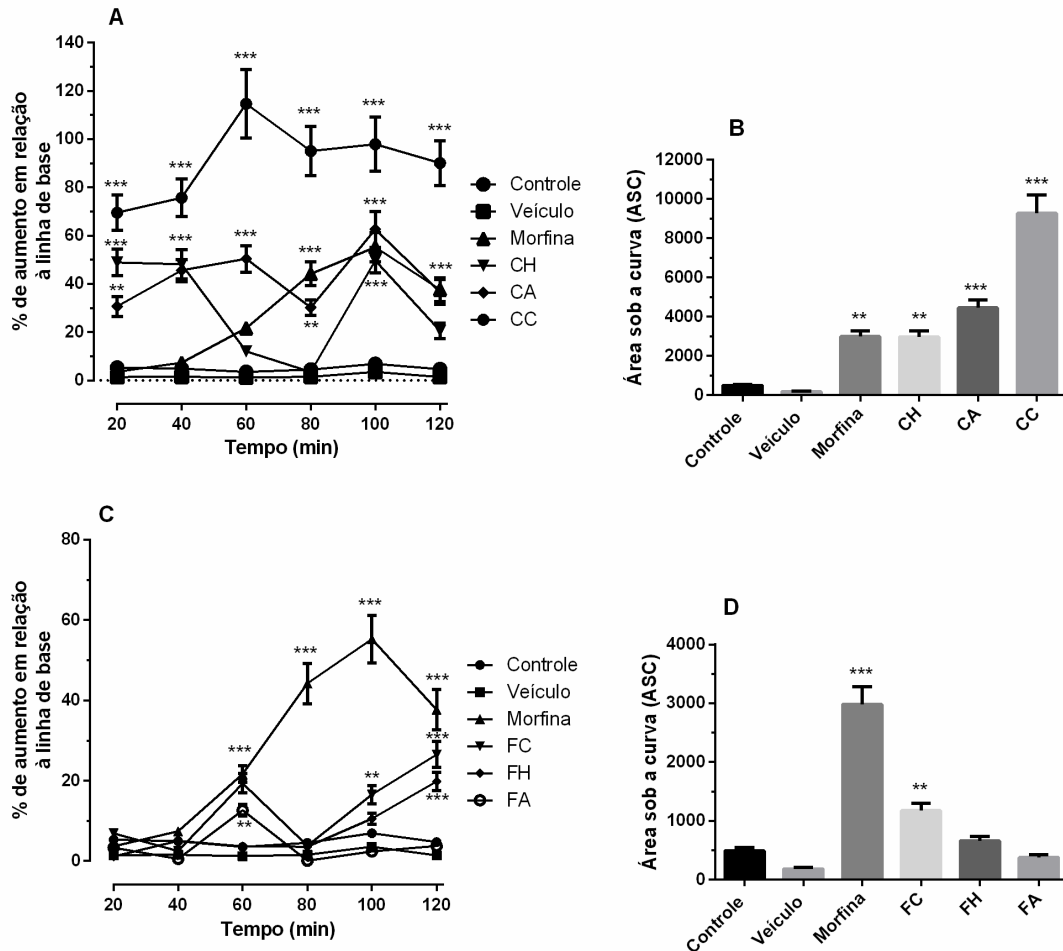




**Figura 2** – Efeitos das frações obtidas a partir de caule e folhas de *Anaxagoreae dolichocarpa* no modelo de formalina. Os camundongos foram pré-tratados com solução salina, veículo, morfina (3 mg/kg), ácido acetilsalicílico (100 mg/kg) e frações (FA, FH, FC, CA, CH e CC – 100 mg/kg). Em A, os resultados referentes ao extrato e frações do caule. Em B, os resultados referentes ao extrato e frações das folhas. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (n = 6-8). A significância estatística foi calculada por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01 e \*\*\*p < 0,001 quando comparando os grupos veículo, morfina, ácido acetilsalicílico e frações com o grupo controle.

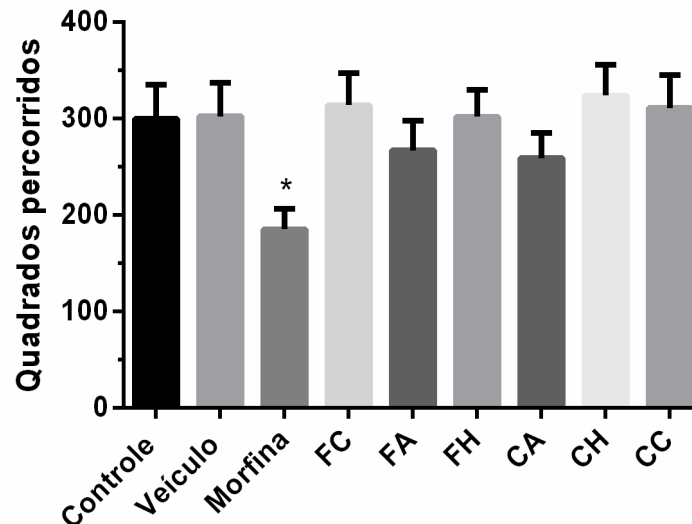
O modelo de retirada da cauda foi utilizado para confirmar o efeito antinociceptivo central demonstrado no modelo da formalina com algumas frações. Neste modelo ocorre a aplicação de um estímulo nociceptivo térmico na cauda. Os neurônios espinhais respondem ao estímulo térmico nocivo, sendo possível a avaliação de mecanismos espinhais envolvidas na antinocicepção (Oliveira et al., 2009). A reação a esse modelo também pode envolver estruturas neurais superiores, sendo assim os fármacos que atuam a nível central, como os opioides, são

capazes de aumentar o tempo de latência de retirada da cauda. (Le Bars et al., 2001; Fischer et al., 2008). Neste modelo foi observado efeito da morfina, com um aumento de 400% na área sob a curva em comparação com a curva do grupo controle, enquanto as frações em hexano, acetato de etila e clorofórmio do caule, e clorofórmio das folhas mostraram um aumento de 497%, 797%, 1767% e 137%, respectivamente [F(25,180) = 7,314; P < 0,001].



**Figura 3** – Efeitos das frações obtidas a partir de caule (A e B) e folhas (C e D) de *Anaxagoreae dolichocarpa* no modelo de imersão da cauda. Em A e C, os camundongos foram pré-tratados com solução salina, veículo, morfina (3 mg/kg) e frações (FA, FH, FC, CA, CH e CC – 100 mg/kg). Em B e D, os gráficos representam a área sob a curva calculada para cada curva tempo-efeito do modelo de imersão da cauda. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (n = 6-8). A significância estatística foi calculada por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01 e \*\*\*p < 0,001 quando comparando os grupos veículo, morfina e frações com o grupo controle.

A fim de eliminar a interferência de comprometimento motor nos resultados obtidos, realizamos o modelo de campo aberto. Estudos sugerem que a ação inibitória sobre o sistema nervoso central (SNC) e efeito miorrelaxante não específico podem reduzir a coordenação motora como, por exemplo, a lambertura da pata no modelo da formalina ou a movimentação de retirada da cauda no modelo de imersão da cauda. (Soja et al., 2002).



**Figura 4** – Efeitos das frações obtidas a partir de caule e folhas de *Anaxagoreae dolichocarpa* no modelo de campo aberto. Os camundongos foram pré-tratados com solução salina, veículo, morfina (3 mg/kg) e frações (FA, FH, FC, CA, CH e CC – 100 mg/kg). Os resultados são apresentados como média ± erro padrão da média (n = 6-8). A significância estatística foi calculada por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01 e \*\*\*p < 0,001 quando comparando os grupos veículo, morfina e frações com o grupo controle.

No modelo de campo aberto não houve alteração significativa na atividade locomotora dos animais pelo uso das frações, demonstrando então que os efeitos antinociceptivos observados não sofreram interferência da função motora. Somente a morfina demonstrou redução no número de quadrados percorridos (redução de 38%) [F(8,45) = 1,937; P = 0,077].

## 5 CONCLUSÃO

Os extratos e frações de caule e folhas de *A. dolichocarpa* foram capazes de combater a nocicepção aguda induzida por agentes químicos, como ácido acético e formalina, e por agentes térmicos. Esta atividade antinociceptiva mostrou ser produzida por ação central, no caso da fração em clorofórmio de folhas e das frações de caule, enquanto as frações em acetato de etila

e hexano de folhas mostraram ação antinociceptiva periférica, possivelmente relacionada a seus efeitos anti-inflamatórios, sendo este objeto de futuras pesquisas.

### REFERÊNCIAS

- Almeida, J. R. G. S.; Oliveira, M. R.; Guimarães, A. L.; Oliveira, A. P.; Ribeiro, L. A. A.; Lucio, A. S. S. C.; Quintans Junior, L. J. Phenolic quantification and antioxidant activity of *Anaxagorea dolichocarpa* and *Duguetia chrysoarpa* (Annonaceae). **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 2, n. 4, 2011.
- Andrade, E. H. A.; Oliveira, J.; Zoghbi, M. G. B. Volatiles of *Anaxagorea dolichocarpa* Spreng. & Sandw. and *Annona densicoma* Mart. Growing wild in the state of Pará, Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, p. 158-160, 2007.
- Ben-Bassat J., Peretz E., Sulman F.G. Analgesimetry and ranking of analgesic drugs by the receptacle method. *Archs. Int. Pharmacodyn. Ther.* (1959) **122**, 434-47.
- Brandão, G. C.; Kroon, E. G.; Santos, J. R.; Stehmann, J. R.; Lombardi, J. A.; Oliveira, A. B. Antiviral activity of plants occurring in the state of Minas Gerais (Brazil): Part: III. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 4, p. 223-236, 2011.
- Bukhari IA, Pivac N, Alhumayyd MS, Mahesar AL, Gilani AH. **The analgesic and anticonvulsant effects of piperine in mice.** *J Physiol Pharmacol.* Dec;64(6):789-94. 2013.
- Collier, H.O.J.; Dinneen; L.C.. Johnson C.A.; Schneider C.. **The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse.** *Brit. J. Pharmacol.* 32(2): 295-310. 1968.
- Dickenson, A. **Mechanisms of central hypersensitivity: excitatory amino acids mechanisms and their control.** *The pharmacology of pain.* (ed M. J. D. Besson, A.), pp. 21-41. Springer-Verlag, Berlin, 1997.
- Fischer, L.G.; Santos, D.; Serafin, C.; Malheiros, A.; Monache, F.D.; Monache, G.D.; Filho, V.C.; Souza, M.M. **Further Antinociceptive Properties of Extracts and Phenolic Compounds from *Plinia glomerata* (Myrtaceae) Leaves.** *Biol. Pharm. Bull.* 31(2) 235—239, 2008.
- Fischer, M., Carli, G., Raboisson, P., Reeh, P. **The interphase of the formalin test.** *Pain* 155, 511–521. (2014).

Fournier, G.; Hadjiakhoondi, A.; Charles, B.; Leboeuf, M.; Cave, A. Volatile components of *Anaxagorea dolichocarpa* fruit. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 22, n. 6, p. 605-608, 1994.

Hunnskaar S, Hole K.. **The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain.** Pain 30: 103–14. 1987.

Jurgens, A.; Webber, A. C.; Gottsberger, G. Floral scent compounds of Amazonian Annonaceae species pollinated by small beetles and thrips. **Phytochemistry**, v. 55, p. 551-558, 2000.

Kennedy JD. Neuropathic pain: molecular complexity underlies continuing unmet medical need. *J Med Chem* 2007; 50: 2547–2556

Koster R., Anderson M., De Beer E.J. Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings*, (1959) **18**, 412.

Le Bars, D., Gozariu, M., Cadden, S. **Animal models of nociception.** *Pharmacological Reviews*, v. 53, p. 628-651, 2001.

Lúcio, A. S. S. C.; Almeida, J. R. G. S.; Barbosa-Filho, J. M.; Pita, J. C. L. R.; Branco, M. V. S. C.; Diniz, M. F. F. M.; Agra, M. F.; Cunha, E. V. L.; Silva, M. S.; Tavares, J. F. Azaphenanthrene Alkaloids with Antitumoral Activity from *Anaxagorea dolichocarpa* Sprague & Sandwith (Annonaceae). **Molecules**, v. 16, p. 7125-7131, 2011.

Mao J. Translational pain research: achievements and challenges. *J Pain* 2009; 10: 1001–1011

**Maas, P. J. M.; Westrar, L. Y. Th. Studies in Annonaceae. II. A monograph of the genus *Anaxagorea* A. St. Hil., Part 1.** *Botanische Jahrbücher für Systematik.*, v. **105**, p. **73-134**, **1984**.

Millan MJ. The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol* 1999; 57: 1–164

Olesen AE, Andresen T, Staahl C, Drewes AM. Human experimental pain models for assessing the therapeutic efficacy of analgesic drugs. *Pharmacol Rev* 2012; 64: 722–779.

Oliveira RRB, Góis RMO, Siqueira JS, Almeida JRGS, Lima JT, Nunes XP, Oliveira VR, Siqueira JS, Quintans-Junior LJ. **Antinociceptive effect of the ethanolic extract of *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Sm., Fabaceae, in rodents.** *Braz J Pharmacogn* 19(3): 672 – 676, 2009.

Pinheiro, R. S.; Rabelo, S. V.; Oliveira, A. P., Guimarães, A. L.; Moraes-Filho, M. O.; Costa, M. P.; Pessoa, C. O.; Lúcio, A. S. S. C.; Almeida, J. R. G. S. Phytochemical screening and

evaluation of cytotoxicity of stem bark extracts of *Anaxagorea dolichocarpa* and *Duguetia chrysocarpa* (Annonaceae). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 4, p. 793-798, 2016.

Silva, C. S.; Saraiva, S. R. G. L.; Júnior, R. G. O; Almeida, J. R. G. S.; **Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão**. Rev. Bras. Farm. 94 (1): 18-23, 2013.

**Silva RHM, Lima NFM, Lopes AJO, Vasconcelos CC, de Mesquita JWC, de Mesquita LSS, Lima FCVM, Ribeiro MNS, Ramos RM, Cartágenes MDSS, Garcia JBS. Antinociceptive Activity of *Borreria verticillata*: In vivo and In silico Studies. Front Pharmacol. 2017 May 22;8:283.**

Torres-Lista V., López-Pousa S., Giménez-Llort L. Impact of Chronic Risperidone Use on Behavior and Survival of 3xTg-AD Mice Model of Alzheimer's Disease and Mice With Normal Aging. *Front Pharmacol.* (2019) 10, 1-25.