

Fisioter Bras 2016;17(4):305-12

## ARTIGO ORIGINAL

### Estudo comparativo da ação anti-inflamatória do óleo-resina da *Copaifera reticulata* em modelos farmacológicos experimentais em camundongos

### Comparative study of oleoresin of copaiba species *Copaifera reticulata* as anti-inflammatory in experimental models in mice

Denilson Henrique Silva de Miranda, Ft., M.Sc.\*, José Wagner Cavalcante Muniz, Ft., D.Sc.\*, Daniela Pinheiro da Silva, Ft., M.Sc.\*

\*Universidade Federal do Amapá

**Endereço para correspondência:** Denilson Henrique Silva de Miranda, Rua Mercúrio, 976, Jardim Marco Zero 68903-383 Macapá AP, E-mail: denilsonmiranda@gmail.com.br, José Wagner Cavalcante Muniz: jwcmuniz@gmail.com, Daniela Pinheiro da Silva: dani.spinheiro@yahoo.com.br

## Resumo

Na Região Amazônica o uso do óleo das árvores copaibeiras é tão extenso, que a copaíba se destaca como a planta medicinal mais utilizada e conhecida pela população amazônica. Existem diversas indicações para a utilização do óleo-resina de copaíba com pouco respaldo científico. Avaliar a ação do óleo-resina de copaíba da espécie *Copaifera reticulata* como anti-inflamatório em modelos experimentais de reação inflamatória aguda foi o objetivo desta pesquisa. Para isso, foram utilizados 4 grupos de 7 camundongos da linhagem *Swiss Webster*, que receberam tratamento veiculado com o ultrassom, e o óleo-resina extraído de árvore da espécie *Copaifera reticulata*. O modelo de inflamação aguda bolsa de ar (*air pouch*) induzida por carragenina foi utilizado para avaliar o efeito anti-inflamatório do óleo-resina de copaíba (*in natura*). As análises ocorreram no exsudato que foi avaliado quanto ao conteúdo total de proteínas, número total de leucócitos e análise celular. Para análise estatística foi eleito o teste de Kruskal-Wallis com nível de significância alfa = 0,05. As células totais e as mononucleares não mostraram diferenças estatisticamente significantes entre si nem em relação ao grupo copaíba. A comparação do nível de proteínas apresentou diferença significativa (p-valor < 0,01) entre o grupo controle (0,2608 ± 0,1557) e o grupo tratado por carragenina (0,597 ± 0,152). Foi observada diferença real (1,4 neutrófilos) entre os grupos carragenina (2,0079 ± 1,5231) e o grupo copaíba (0,6063 ± 0,32). Conclui-se que a atividade anti-inflamatória do óleo-resina é potencialmente importante como fonte de princípios ativos e que o ultrassom proporcionou a facilitação e aceleração da penetração transcutânea do óleo-resina de copaíba, favorecendo o seu uso tópico.

**Palavras-chave:** copaifera reticulata, edema de pata, análise celular.

## Abstract

In the Amazon region the use of oil of copaibeira trees is so extensive that the copal stands out as the most known medicinal plant used by Amazonian population. There are several indications for the use oleoresin of copaiba with little scientific backing. The aim of this study was to evaluate the effects of oleoresin of copaiba species *Copaifera reticulata* as anti-inflammatory in experimental models of acute inflammatory reaction. For this, we used 28 mice of *Swiss Webster* strain, who received treatment with ultrasound aired, and oleoresin extracted from *Copaifera reticulata*. The model of acute inflammation air pouch induced by carrageenan was used to evaluate the anti-inflammatory effect of oleoresin of copaiba (fresh). The analysis occurred in the exudate analyzed for total protein content, total number of leukocytes and cell analysis. For statistical analysis was elected the Kruskal-Wallis test with significance level alpha = 0.05. Total cells and mononuclear cells showed no statistically significant differences among themselves or in relation to the group copal. The comparison of protein level showed a significant difference (p-value < 0.01 \*), saline was lower (0.2608 ± 0.1557) than carrageenan (0.597 ± 0.152). Real difference was observed (1.4 neutrophils) between groups carrageenan (2.0079 ± 1.5231) and the group copaiba (0.6063 ± 0.32). We concluded that the anti-inflammatory activity of the oleoresin is potentially important as a source of active ingredients and provided that ultrasound facilitation and acceleration of transcutaneous penetration of the copaiba oil, favoring its topical use.

**Key-words:** copaifera reticulata, paw edema, cellular analysis.

## Introdução

Popularmente conhecidas como copaibeiras ou pau d'óleo, as copaibas são encontradas facilmente nas Regiões Amazônica e Centro-Oeste do Brasil [1]. Existem várias espécies abundantes, entre as quais podemos citar a *Copaifera reticulata*, que está presente apenas no Brasil, na Amazônia brasileira. Estudos registram a sua ampla presença no estado do Pará, mas também pode ser encontrada no sudoeste do Amapá, sudeste de Roraima e norte do Mato Grosso [2].

A composição química do óleo de copaíba é rica em sesquiterpenos e diterpenos de diferentes concentrações [3] e o ácido copálico a única substância encontrada em todos os óleos analisados, razão pela qual se sugere que seja um marcador biológico de óleos de copaíba [1].

Devido à ampla utilização do óleo de copaíba, muitos estudos foram realizados sobre este gênero, com mais de 200 publicações em diversas áreas. Contudo muitos dados sobre a composição química e a atividade farmacológica do óleo de copaíba são contraditórios [1,4].

Muitos produtos derivados de metabólitos secundários de plantas são conhecidos por interferir direta ou indiretamente em moléculas ou mecanismos envolvidos no processo inflamatório.

Dentre os grupos químicos mais comuns de origem natural com possível efeito anti-inflamatório podemos citar: compostos fenólicos, lignanas, terpenos (sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, clerodanos e saponinas), alguns fitoesteróides e alcaloides [5,6].

Apesar do crescente interesse na fitoquímica, poucos compostos derivados de plantas têm sido submetidos a triagens clínicas para confirmar seu potencial efeito anti-inflamatório. Estes estudos são necessários para confirmação da eficácia destes produtos bem como sua aplicação com segurança em processos inflamatórios [6].

Existem diversas indicações para a utilização do óleo-resina de copaíba com pouco respaldo científico, muitas delas citadas em diversos trabalhos científicos. As propriedades já comprovadas por meio de modelos experimentais são: anti-inflamatória, cicatrizante, analgésica e gastroprotetora [7].

Diante das variadas aplicações terapêuticas dos óleos de copaíba, são muito reduzidos os estudos farmacológicos descritos até o momento, para estes óleos. A grande maioria destes estudos não indica a espécie de onde proveio o óleo, nem informam a época e o local de coleta. A ausência destas informações abre uma grande lacuna de incertezas em relação à autenticidade destes óleos, uma vez que estudos sobre a autenticidade de 16 diferentes tipos de óleos de copaíba comerciais, por cromatografia gasosa de alta resolução, mostraram que em grande parte, óleos de copaíba diferentes são misturados. Além disso, foi comprovada também adulteração, possivelmente com óleo de soja. Estudos etnobotânicos relacionados aos óleos de copaíba relatam que nem todas as árvores exudam óleos apropriados para o uso medicinal [8].

### *A Fisioterapia: o ultrassom terapêutico como recurso físico anti-inflamatório*

A Fisioterapia atua como tratamento coadjuvante na recuperação dos tecidos orgânicos lesados se utilizando de vários métodos e técnicas que visam de um modo geral melhorar o bem-estar físico e psíquico do indivíduo [9]. O mais comum é o emprego da terapia por ultrassom nas lesões de partes moles, objetivando os efeitos antiálgico, antiedema, anti-inflamatório e de aceleração na recuperação do tecido lesionado [10].

No entanto, a utilização do ultrassom como sonoforese não é utilizado no cotidiano dos serviços de fisioterapia [11]. A sonoforese ou fonoforese é a energia ultrassônica utilizada para introduzir componentes ativos de fármacos de forma transdérmica; é uma forma ou sistema especial de acoplamento direto, que realiza o transporte transdérmico através das ondas ultrassônicas para facilitar a introdução dos fármacos aplicados topicamente [12-15].

Trata-se de um método vantajoso, pois a droga não é introduzida de forma invasiva, penetrando no tecido de forma tópica, evitando a eliminação metabólica da droga, pois esta não passa pelo fígado [16]. Em contrapartida a desvantagem é que há baixa permeabilidade através da pele [12,13,17]. A indução à absorção transcutânea de drogas pela sonoforese se baseia na perturbação tecidual, ou seja, na mudança da estrutura das camadas cutâneas [10].

O ultrassom aumenta a penetração transcutânea por pressão somática, podendo chegar a média a atingir entre 4-5 cm de profundidade [12]. Pode ser aplicado com um gel ou óleo medicamentoso como meio de acoplamento do transdutor ultrassônico.

Verificou-se a necessidade de estudar o mecanismo anti-inflamatório de ação do óleo-resina de copaíba da espécie *Copaifera reticulata*, a espécie mais comum na região amazônica, particularmente no Estado do Pará. Quanto as suas vias de aplicações em concentrações não tóxica aliada a vantagem da fonoforese por ser uma técnica não invasiva. Em fase da eficácia das diversas vias de aplicação ainda não possuem um modelo comparativo experimental que seja totalmente comprovada existindo, portanto, controvérsias, o que remota a este motivo da realização do presente estudo. Portanto, o presente trabalho visou a comprovação científica da utilização do óleo-resina de Copaíba da espécie *Copaifera Reticulata* como moduladora da resposta inflamatória aguda (*air pouch*) em diferentes modelos farmacológicos inflamatórios experimentais em camundongos.

## Material e métodos

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de Animais da Universidade do Estado do Pará - UEPA, através do protocolo nº 44/08. Tendo anuência do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Fundação Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz/RJ. A pesquisa desenvolvida no Laboratório de Neuroquímica e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará (UFPA) e no Laboratório de Imunofarmacologia – Pavilhão Ozório de Almeida - Fundação Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz/RJ.

### *Animais experimentais*

Foram utilizados 28 camundongos da linhagem *Swiss Webster* (SW) machos; com idade entre 6 e 8 semanas; peso variando entre 20 e 35 g, procedentes do Centro de Criação de Animais de Laboratório (CECAL) da Fundação Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz/RJ.

### *Equipamento de ultrassom*

Os grupos receberam tratamento veiculado com o ultrassom terapêutico, modelo Sonacel expert da marca Bioset - Indústria de Tecnologia Eletrônica Ltda. Os parâmetros físicos utilizados foram: frequência de 3 MHz, área de irradiação efetiva (ERA) 3,6 cm<sup>2</sup>; modo de corrente pulsado (frequência do pulso = 100 Hz – 1/2); intensidade média de 0,4 W/cm<sup>2</sup>; durante 5 minutos, em movimento circular horário do cabeçote em toda a extensão da região da pata direita na conformidade da descrição de Durigan *et al.* [18] e no modelo de bolsa de ar (*air pouch*) descrito previamente por Selye [19] e adaptado por Ghosh *et al.* [20].

### *Obtenção do óleo de copaíba*

O óleo-resina de copaíba utilizado neste experimento foi extraído de árvore copaibeira da espécie *Copaifera reticulata*, família das *Leguminosae* (divisão *Caesalpinioideae*), aplicado na sua forma pura a quantidade de 20 ml.

A coleta do óleo ocorreu na Estação Científica Ferreira Penna (ECFPn), Floresta Nacional de Caxiuanã, localizada no Município de Melgaço no Estado do Pará, Estação Científica administrada pelo Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) em Belém/PA, autorizado através do Ofício MPEG/Caxiuanã nº 018/2008.

### *Preparo do óleo-resina para tratamento tópico*

Foi administrado de forma tópica o óleo-resina de copaíba puro (*in natura*), utilizando 100 µl na bolsa de ar (modelo inflamatório *air pouch*) como forma padronizada da dose de óleo-resina de copaíba para esta pesquisa.

### Fármaco utilizado

Foi utilizado o diclofenaco dietilamônio (DCB 0398.02-0) produzido pela Cristália Produtos químicos Farmacêuticos Ltda., na forma farmacêutica de gel na dose de 11,6 mg/g, equivalente a diclofenaco de potássio 10 mg. O excipiente utilizado era composto por dietilamina, carbopol 940, cetomacrogol 1000, álcool isopropílico, cera de ésteres do álcool cetílico, propilenoglicol, metilparabeno, vaselina líquida, fragrância splash e água purificada. O medicamento tem prazo de validade de 36 meses e deve ser armazenado sob temperatura entre 15 e 30°

### Modelo inflamatório de bolsa de ar (air pouch)

O modelo de bolsa de ar (*air pouch*) foi utilizado para avaliar o efeito anti-inflamatório do óleo-resina de copaíba da espécie *Copaifera reticulata* (*in natura*). Os camundongos SW machos (n = 7/grupo) foram anestesiados com inalação de isoflurano e seus dorsos foram desinfetados com álcool iodado. Um volume de 5 ml de ar estéril (obtido através de captação dentro do fluxo laminar) foi injetado via subcutânea no dorso dos animais formando uma cavidade (bolha). Três dias depois, foi reinjetado 3 ml de ar estéril para a manutenção da bolha. No sexto dia, a inflamação foi induzida pela injeção de 1 ml de carragenina 1% (em salina fisiológica estéril) dentro da bolha para os grupos de inflamação; para o grupo controle, utilizou-se solução salina. Uma hora antes da indução da inflamação, os animais foram tratados, conforme a distribuição dos grupos de tratamento descritos a seguir:

- Grupo experimental 1 (n = 7) – Carragenina + Óleo-resina de copaíba + Ultrassom: animais tratados com o óleo-resina de *Copaifera reticulata* (*in natura*) veiculada de forma tópica através do ultrassom (frequência de 03 MHz; área de irradiação efetiva (ERA) 3,6 cm<sup>2</sup>; modo de corrente pulsado (frequência do pulso = 100 Hz – 1/2); intensidade média de 0,4 W/cm<sup>2</sup>, durante 5 min, em movimento circular horário do cabeçote) na região epilada da bolsa de ar;
- Grupo experimental 2 (n = 7) – Carragenina + Diclofenaco dietilamônio + Ultrassom: animais tratados com o diclofenaco dietilamônio na dose de 11,6 mg/g de forma tópica através de ultrassom (frequência de 3 MHz; área de irradiação efetiva (ERA) 3,6 cm<sup>2</sup>; modo de corrente pulsado (frequência do pulso = 100 Hz – 1/2); intensidade média de 0,4 W/cm<sup>2</sup>, durante 5 min, em movimento circular horário do cabeçote), na região epilada da bolsa de ar;
- Grupo experimental 3 (n = 7) – Carragenina + óleo mineral + Ultrassom: O grupo de animais recebeu somente injeção de carragenina dentro da bolsa de ar e recebeu aplicação de óleo mineral forma tópica através de ultrassom (frequência de 03 MHz; área de irradiação efetiva (ERA) 3,6 cm<sup>2</sup>; modo de corrente pulsado (frequência do pulso = 100 Hz – 1/2); intensidade média de 0,4 W/cm<sup>2</sup>, durante 5 min, em movimento circular horário do cabeçote), na região epilada da bolsa de ar;
- Grupo experimental 4 (n = 7) – Solução salina + óleo mineral + Ultrassom: O grupo recebeu somente solução salina fisiológica estéril (1 mL) injetada dentro da bolsa de ar e recebeu aplicação de óleo mineral forma tópica através de ultrassom (frequência de 3 MHz; área de irradiação efetiva (ERA) 3,6 cm<sup>2</sup>; modo de corrente pulsado (frequência do pulso = 100 Hz – 1/2); intensidade média de 0,4 W/cm<sup>2</sup>, durante 5 min, em movimento circular horário do cabeçote), na região epilada da bolsa de ar.

Ao término da administração das condutas terapêuticas nos grupos tratados, os camundongos foram sacrificados por inalação de CO<sub>2</sub>. As cavidades subcutâneas foram cuidadosamente abertas e lavadas com 1 mL de salina fisiológica com EDTA 2mM. Os exsudatos foram coletados e imediatamente acondicionados em gelo. O exsudato foi analisado quanto ao volume (descontado o volume de solução fisiológica injetada), conteúdo total de proteínas, número total de leucócitos e análise celular.

### Contagem total de leucócitos

A contagem de leucócitos totais foi realizada diluindo-se (1:20) uma alíquota do exsudato em solução de violeta de genciana a 1% em salina fisiológica. A contagem das células foi realizada em câmara de *Neubauer*, por microscopia de luz. A concentração de células presentes na cavidade foi obtida multiplicando-se o número de células contadas na



câmara de *Neubauer* pelo fator de correção da câmara e pelo fator de diluição das amostras, expressa em número de leucócitos totais x 10<sup>6</sup> /mL de exsudato.

### Estudo estatístico

Para avaliar as hipóteses referentes à atividade antiedematogênica nas concentrações do óleo-resina de copaíba da espécie *Copaifera reticulata* foi aplicada a análise de variância (ANOVA), com múltiplas comparações pelo pós-teste de Tukey, com nível de significância  $\alpha = 0,05$  para rejeição da hipótese nula. O processamento dos dados foi suportado pelos softwares BioEstat versão 5.0 e Graph Pad PRISM versão 4.

## Resultados

### Modelo inflamatório de bolsa de ar (air pouch)

Na avaliação transversal, após 5 min de intervenção, a expressão das variáveis: células totais e células mononucleares não mostraram diferenças estatisticamente significantes entre si nem em relação ao grupo copaíba.

A comparação do nível de proteínas apresentou diferença significativa ( $p$ -valor  $< 0,01$ ) somente entre Salina ( $0,2608 \pm 0,1557$ ) e Carragenina ( $0,597 \pm 0,152$ ), ou seja, foi evidente apenas que a inflamação na bolsa de ar (*air pouch*) foi menor na Salina quando comparada com a Carragenina.

Foi observada diferença real (1,4 neutrófilos) entre os grupos Carragenina ( $2,0079 \pm 1,5231$ ) e o grupo Copaíba ( $0,6063 \pm 0,32$ ) o  $p$ -valor = 0,049 indica que esta diferença é estatisticamente significativa, conforme é mostrado na tabela I e evidenciado na figura 1.

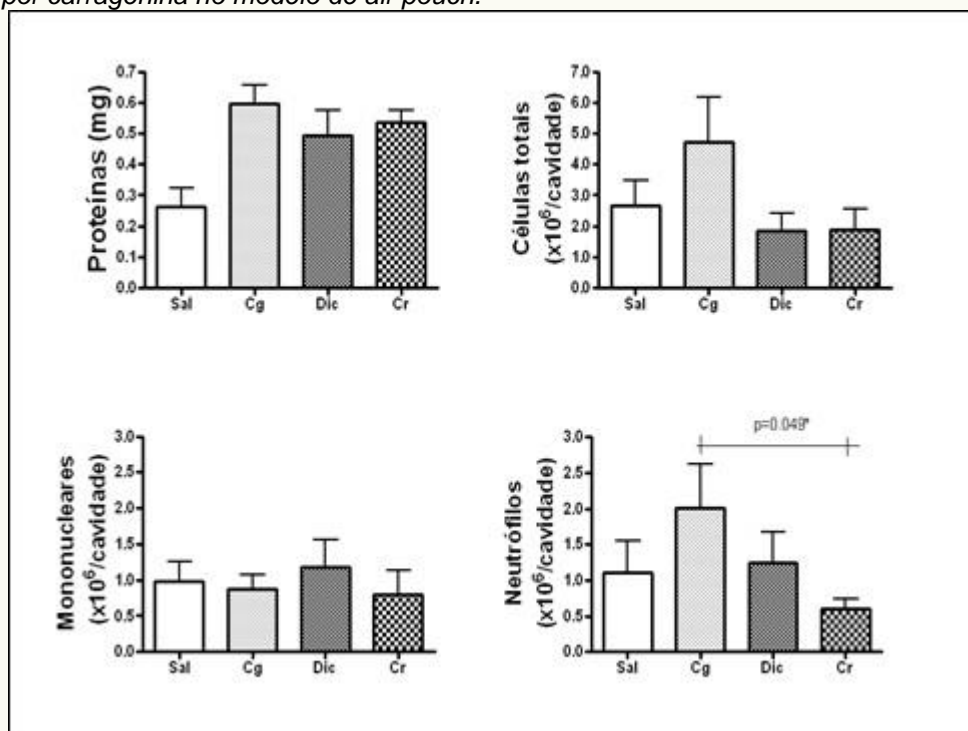
A figura 1 evidencia a redução significativamente estatística na quantidade de células neutrófilos ( $p < 0,05$ ) no grupo Copaíba em relação ao grupo Carragenina, o que leva a constatação evidente da ação anti-inflamatória do óleo-resina de copaíba.

**Tabela I** – Avaliação do efeito da fonoforese de Copaíba in natura sobre o Air pouch em relação a 3 grupos controle: salina, carragenina e diclofenaco, realizada através da contagem do número de células.

	Salina (n = 6)	Cg (n = 7)	Dic (n = 6)	Copaiba (n = 6)	p-valor
<b>Células totais</b>					0,1625
Min-Máx	0,2 – 5,2	1,2 – 12,6	0,2 – 4,2	0,2 – 4,7	
Média $\pm$ DP	2,7 $\pm$ 2,0	4,7 $\pm$ 3,9	1,9 $\pm$ 1,4	1,9 $\pm$ 1,6	
Mediana	2,8	2,9	1,4	1,3	
P25-P75	1,1 – 4,2	2,4 – 5,8	1,3 – 2,4	1,0 – 2,5	
<b>Proteínas</b>					0,0061*
Min-Máx	0,117 – 0,517	0,451 – 0,814	0,331 – 0,893	0,412 – 0,665	
Média $\pm$ DP	0,2608 $\pm$ 0,1557	0,597 $\pm$ 0,152	0,4935 $\pm$ 0,2022	0,536 $\pm$ 0,0997	
Mediana	0,214	0,545	0,4230	0,522	
P25-P75	0,145 – 0,339	0,478 – 0,708	0,4055 – 0,4743	0,4698 – 0,6125	
<b>Mononuclear</b>					0,8261
Min-Máx	0,1656 – 1,872	0,4176 – 1,5675	0,0954 – 2,646	0,1352 – 2,436	
Média $\pm$ DP	0,9798 $\pm$ 0,6796	0,8738 $\pm$ 0,496	1,1802 $\pm$ 0,9175	0,7904 $\pm$ 0,8446	
Mediana	0,927	0,6912	0,9604	0,5561	
P25-P75	0,4786 – 1,4753	0,4961 – 1,2561	0,6542 – 1,6403	0,299 – 0,7733	
<b>Neutrófilo</b>					0,049*
Min-Máx	0,0144 – 0,2808	0,4608 – 4,7025	0,08346 – 3,234	0,1248 – 1,044	
Média $\pm$ DP	1,1102 $\pm$ 1,0908	2,0079 $\pm$ 1,5231	1,2398 $\pm$ 1,0828	0,6063 $\pm$ 0,32	
Mediana	0,9455	1,5996	0,9639	0,6742	
P25-P75	0,2304 – 1,7033	1,0844 – 2,4789	0,737 – 1,3893	0,4361 – 0,7414	

\*Teste ANOVA 1 critério post-hoc de Tukey

**Figura 1** – Efeito do tratamento com as doses de *Copaifera reticulata* na contagem total do número de células, no número de proteínas, na migração de monócitos e neutrófilos induzida por carragenina no modelo de *air pouch*.



A dose da *Copaifera reticulata* foi administrada por via tópica (in natura 100  $\mu$ l) veiculada por ultrassom, 1 hora antes do estímulo com a carragenina (1% em solução salina). Como controles, um grupo foi tratado com diclofenaco (Dic – 11,6 mg/g na dose 100  $\mu$ l) veiculada por ultrassom, outro não recebeu o agente flogístico (salina), sendo tratado com óleo mineral (100  $\mu$ l) veiculado por ultrassom e outro grupo recebeu o agente flogístico (grupo Cg), sendo tratado com óleo mineral (100  $\mu$ l) veiculado por ultrassom. Os resultados estão expressos em média DP (n = 6-7/grupo); \*pelo teste de Tukey.

## Discussão

O modelo de *air pouch*, primeiramente descrito por Selye [19] e adaptado por Ghosh et al. [20], tem sido utilizado para estudar os mecanismos envolvidos na resposta inflamatória. Neste modelo o exsudato inflamatório é coletado, podendo ser utilizado para diversas análises. Em uma segunda abordagem, este modelo permite a pesquisa de drogas antirreumáticas, uma vez que a cavidade não inflamada é limitada por uma fina camada de fibroblastos e macrófagos, semelhante à cavidade sinovial [21]. A injeção de um irritante no interior da cavidade induz uma resposta inflamatória que se assemelha à observada na articulação reumatoide [22]. Estudos realizados por García-Ramallo *et al.* [23] mostraram o papel das células residentes na inflamação que, quando estimuladas, liberam TNF- $\alpha$ , responsável pela síntese de quimiocinas e, como consequência, pela migração de leucócitos. Outras citocinas como IL-1 e IL-6 também participam deste processo.

Neste estudo foram analisados os seguintes parâmetros no modelo *air pouch*: número de células na cavidade (exsudato) onde a inflamação foi induzida e o volume de exsudato formado. O tratamento com o óleo-resina de copaíba da espécie *Copaifera Reticulata in natura* com aplicação tópica na região da bolsa de ar veiculada pelo ultrassom inibiu a migração de células para o exsudato (Figura 1) com significância estatística ( $p < 0,05$ ), no entanto, não ocorreu uma inibição na formação do exsudato (Figura 1) estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

A injeção de carragenina na bolha, como supracitado, produz uma resposta inflamatória aguda caracterizada pela infiltração de células, aumento da exsudação e produção de mediadores inflamatórios, tais como prostaglandinas, leucotrienos e citocinas [24]. A diminuição da exsudação sugere que parte do efeito anti-inflamatório do óleo-resina de copaíba da espécie *Copaifera reticulata in natura* pode ser atribuído à redução da permeabilidade vascular. Pode ser sugerido, então, que um dos possíveis mecanismos envolvidos na redução do processo inflamatório pelo óleo-resina de copaíba da espécie *Copaifera Reticulata in natura*

seja a inibição da migração de células para o sítio inflamatório, o que poderia estar relacionado a liberação de leucotrieno B4 (sintetizado pelo via da LOX), que é um potente quimioatraente para neutrófilos. Quanto à redução do número de neutrófilos ocorrida nos grupos copaíba (0,6063 ± 0,32) e diclofenaco (1,2398 ± 1,0828) merece consideração a ação do óleo-resina de copaíba da espécie *Copaifera reticulata in natura*, pois o decréscimo acentuado no número de neutrófilos foi indicativo de uma ocorrência de inibição da liberação de histamina, serotonina e/ou bradicinina (devido a inibição observada na primeira hora) bem como a atividade da COX, LOX e/ou citocinas, porém outros dados são necessários para comprovar estes efeitos.

### Conclusão

O ultrassom facilitou a aceleração da penetração transcutânea do óleo-resina de copaíba, favorecendo o seu uso tópico, proporcionando um menor tempo de alcance do pico de ação farmacológica, sendo, portanto, indicada a associação da fonoforese com óleo-resina de copaíba como recurso a fazer parte do arsenal terapêutico da fisioterapia.

Apesar da extensa literatura que trata dos óleos de copaíba, poucos são os trabalhos que aprofundam o conhecimento sobre uma determinada espécie, por isso o objetivo desta pesquisa foi contribuir no estudo do potencial de ação biológica do óleo-resina de copaíba da espécie *Copaifera reticulata*. Tudo indica que o óleo-resina em estudo é potencialmente importante como fonte de princípios ativos em farmacologia necessários a pesquisas científicas de identificação de mecanismos de ação farmacológica isolada dos princípios ativos contidos em seu composto.

### Referências

1. Veiga Júnior VF, Pinto AC. O gênero *Copaifera* L. *Química Nova* 2002;25(2):273-86.
2. Cascon V, Gilbert B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaiferaduckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. *Phytochemistry* 2000;55:773-78.
3. Martins-da-Silva RCV, Pereira JF, Lima HC. O gênero *copaifera* (leguminosae – caesalpinioideae) na Amazônia brasileira. *Rodriguésia* 2008;59(3):455-76.
4. Oliveira FMM. Estudos de Matéria Médica Vegetal. Escola Typographica Salesiana: São Paulo; 1905. p. 114.
5. Calixto JB, Campos MM, Otuki MF, Santos AR. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II. Modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. *Planta Med* 2004;70(2):93-103.
6. Reis PA. Fracionamento de Extratos de *Baccharis trimera* Less. DC. Biomonitorado pelo Potencial Antiinflamatório [Tese]. Rio de Janeiro: UERJ; 2006. 147p.
7. Souza-Júnior OG, Damous SHB, Lamarão LG. Revisão crítica do uso do óleo de copaíba. *Rev Par Med* 2000;14(1):71-6.
8. Maciel MAM, Pinto AC, Veiga Junior VF. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova* 2002;25(3):429-38.
9. Lange F, Kroth A, Steffani JA, Lorencetti N. Influência da laserterapia no processo cicatricial de queimaduras de terceiro grau. *Fisioter Bras* 2003;4(5):335-40.
10. Low J, Reed A. *Eletroterapia explicada*. 3 ed. Barueri: Manole; 2001.
11. Barreto JG, Matos AP. Efeito da fonoforese de óleo de andiroba (*Carapa guianensis*) sobre o edema inflamatório agudo [Dissertação]. Belém: Universidade do Estado do Pará; 1998.
12. Agne JE. *Eletrotermoterapia Teoria e Prática*. Santa Maria/RS: Pallotti; 2004.
13. Mitragotri S, Sundaram J, Mellein BR. An experimental and theoretical analysis of ultrasound-induced permeabilization of cell membranes. *Biophysical Journal* 2003;84:3087-3101.
14. Mitragotri S, Blankschtein D, Langer R. Ultrasound – mediated transdermal protein delivery. *Science* 1995;269(5225):850-3.
15. Brasileiro JS, Alves TC, Escossia CC. Análise da transmissibilidade ultrassônica de medicamentos utilizados na prática da fonoforese. *Rev Bras Fisioter* 2003;7(2):139-44.
16. Starkey C. *Recursos terapêuticos em fisioterapia*. 2 ed. São Paulo: Manole; 2001. 404p.

17. Wu J, Chappelow J, Yang J, Weimann L. Defects generated in human stratum corneum specimens by ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 1998;24(5):705-10.
18. Durigan JLQ, Baretta IP, Costa CN, Borges HE. Efeitos do ultrassom terapêutico pulsado associado à indometacina no edema de ratos artríticos. *Fisioter Bras* 2005;6(2):130-5.
19. Selye H. Induction of topical resistance to acute tissue injury; an experimental study with the granuloma pouch technique. *Surg Clin North Am* 1953;1417-46.
20. Ghosh AK, Hirasawa N, Niki, H., OHUCHI, K. Cyclooxygenase-2-mediated angiogenesis in carrageenan-induced granulation tissue in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;295:802-9.
21. Edwards JCW, Sedgwick AD, Willoughby DA. The formation of a structure with the features of synovial lining by the subcutaneous injection of air: an in vivo tissue culture system. *J Pathol* 1981;134:147-56.
22. Ellis L, Gilston V, Soo CC, Morris CJ, Ki DDBL, Winyard PG. Activation of the transcription factor NF- $\kappa$ B in the rat air pouch model of inflammation. *Ann Rheum Dis* 2000;59:303-7.
23. Garcia-Ramallo E, Marques T, Prats N, Beleta J, Kunkel SL, Godessart N. Resident cell chemokine expression serves as the major mechanism for leukocyte recruitment during local inflammation. *J Immunol* 2002;169(11):6467-73.
24. Yin LL, Zhang WY, LI MH, Shen JK, Zhu XZ. CC05, a novel anti-inflammatory compound, exerts its effect by inhibition of cyclooxygenase-2 activity. *Eur J Pharmacol* 2005;520(1-3):172-8.