

Efeitos farmacológicos e toxicológicos do extrato de *Posoqueria acutifolia* Mart. (Rubiaceae) em roedores

Sousa, O.V.^{1*}; Del-Vechio-Vieira, G.¹; Almeida, B.H.¹; Miranda, M.A.¹; Filgueiras, R.C.¹; Campos, A.C.¹; Silvério, M.S.¹

¹Departamento Farmacêutico, Faculdade de Farmácia e Bioquímica, Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF, Juiz de Fora, MG, Brasil.

Recebido 21/05/07 / Aceito 15/08/07

RESUMO

O presente trabalho investigou os efeitos farmacológicos e toxicológicos do extrato metanólico dos galhos de *Posoqueria acutifolia*. Foram realizados os testes de contorções abdominais, formalina, placa quente, edema de pata e pleurisia, bem como para a toxicidade aguda. As doses de 100, 200 e 400 mg/kg inibiram as contorções abdominais. No teste da formalina, a dose de 400 mg/kg reduziu o tempo de lambida da primeira fase, enquanto este efeito foi observado nas doses de 200 e 400 mg/kg sobre a segunda fase. O tempo de permanência sobre a placa quente aumentou na dose de 400 mg/kg, embora a dose de 200 mg/kg também tenha tido efeito significativo após 90 minutos de tratamento. Houve uma redução do edema de pata, do volume do exsudato e da migração leucocitária nas doses testadas. O extrato testado não foi tóxico nas doses avaliadas. Portanto, o extrato metanólico de *P. acutifolia* exibe efeitos analgésico e antiinflamatório, o que poderia estar relacionado a seu uso na medicina popular.

Palavras-chave: *Posoqueria acutifolia*; Rubiaceae; efeito analgésico; efeito antiinflamatório; toxicidade aguda.

INTRODUÇÃO

Vegetais pertencentes à família Rubiaceae compreendem cerca de 637 gêneros e aproximadamente 10700 espécies distribuídas em regiões tropicais (Robbrecht, 1988; Chiquieri et al., 2004). O gênero *Posoqueria* (Rubiaceae), encontrado na América do Sul (Anderson, 1992), especialmente em matas úmidas do Brasil (Macias, 1988), é caracterizado pela presença de inflorescências pêndulas, com botões florais curvos no ápice e anteras pilosas (Pereira & Barbosa, 2004). Da espécie *Posoqueria latifolia*, usada na medicina popular como anti-séptica e cicatrizante de feridas (Fenner et al., 2006), foram identificadas substâncias iridoídicas (Chao & Svoboda, 1980).

Posoqueria acutifolia Mart. (Rubiaceae), encontrada na mata atlântica, é usada popularmente como antimicrobiano, cicatrizante e antiinflamatório (Soares Júnior

et al., 2005), porém, estudos farmacológicos e toxicológicos não são descritos na literatura científica. Em virtude das aplicações terapêuticas desta planta na medicina popular, o presente estudo teve como objetivo investigar a toxicidade aguda e os efeitos analgésico e antiinflamatório do extrato metanólico dos galhos de *P. acutifolia* empregando os modelos de nocicepção e inflamação induzidos em ratos e camundongos.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material vegetal

P. acutifolia foi coletada em Camocim, Ceará, Brasil, em fevereiro de 2005. Uma exsicata, identificada por Dra. Fátima Regina Gonçalves Salimena Pires, foi depositada no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Juiz de Fora sob nº de registro 43961, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

Preparo dos extratos

Os galhos (sem folhas) foram submetidos à secagem a 50°C, sob ventilação forçada, com perda de aproximadamente 92% de sua umidade. O material botânico (750 g) foi triturado em moinho mecânico e pulverizado em tamise de malha 80. O extrato metanólico foi obtido por maceração estática durante três semanas com dez trocas de solvente. Após remoção do metanol por rotaevaporação, o extrato bruto seco foi solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) 1% (v/v) em solução salina para avaliação das atividades farmacológicas.

Animais

Foram utilizados camundongos Swiss (25-30 g) e ratos Wistar (200-240 g) machos provenientes do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno (47x34x18 cm) com ração e água *ad libitum* em temperatura ambiente (22±2 °C) durante três dias no ciclo claro/escuro

*Autor correspondente: Orlando Vieira de Sousa - Departamento Farmacêutico - Faculdade de Farmácia e Bioquímica - Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF - Campus Universitário, Martelos - CEP: 36036-330 - Juiz de Fora - MG, Brasil - Telefone: (32) 2102-3819 - Fax: (32) 2102-3812 - E-mail: orlando.sousa@ufjf.edu.br

de 12 horas (claro de 06:00 às 18:00 h). Doze horas antes da realização dos experimentos, os animais foram privados de alimentação. Os protocolos utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal (CEEA) desta instituição.

Avaliação da toxidez aguda

Grupos de 10 camundongos receberam doses de 0,5, 1, 1,5, 2 e 3 g/kg de solução do extrato metanólico de *P. acutifolia* por via oral, enquanto o grupo controle recebeu solução salina. Os grupos foram observados por 48 horas, registrando-se a mortalidade dos animais (Dietrich, 1983). A DL_{50} foi determinada através do método dos probitos usando a porcentagem da mortalidade e o logaritmo das doses seguidas de regressão linear (Litchfield & Wilcoxon, 1949).

Avaliação da atividade analgésica

Teste de contorções abdominais

O extrato metanólico (100, 200 e 400 mg/kg; 0,01 mL/g) foi administrado em camundongos, por via oral (v.o.), uma hora antes da aplicação de 10 mL/kg de ácido acético 0,6% (n = 8) (Koster et al., 1959; Collier et al., 1968) intraperitonealmente. O número de contorções abdominais foi contado entre 10 e 30 minutos após esse procedimento. O grupo controle recebeu 10 mL/kg de salina (v.o.). Indometacina, antiinflamatório não-esteróide (Rang et al., 2001), (10 mg/kg, v.o.) foi usada como controle positivo do teste.

Teste da formalina

Um volume de 20 μ L de formalina 2,5% (em salina estéril) foi aplicado no espaço subplantar da pata direita dos camundongos (n = 8) e a duração do tempo de lambida foi determinado de zero a cinco minutos (1ª fase) e 15 a 30 minutos (2ª fase) (Hunskaar & Hole, 1987). O extrato de *P. acutifolia* foi administrado nas doses de 100, 200 e 400 mg/kg (v.o.) uma hora antes da injeção da formalina. Os animais controle receberam 10 mL/kg de salina (v.o.), sendo usada morfina (1 mg/kg, s.c.) como controle positivo do teste.

Teste da placa quente

Quatro grupos de oito camundongos foram tratados com salina ou extrato metanólico (100, 200 ou 400 mg/kg, v.o.; 0,1 ml/10 g). Os animais foram colocados em placa quente aquecida a 55 ± 1 °C (Eddy & Leimbach, 1953). As medidas do tempo de latência foram realizadas nos tempos zero, 30, 60 e 90 minutos após administração do extrato, com tempo máximo de permanência sobre a placa quente de 40 segundos. Em outro grupo de animais, o efeito do pré-tratamento com naloxona (1 mg/kg, s.c.) sobre a analgesia, produzida pelo extrato (400 mg/kg, v.o.), foi determinado. Morfina (1 mg/kg, s.c.), na ausência e na presença de naloxona, foi usada como controle positivo do teste.

Avaliação da atividade antiinflamatória

Edema de pata induzido por carragenina

O edema de pata foi induzido pela injeção de 0,1 mL de carragenina (2% p/v) em salina estéril e administrada na região subplantar da pata direita de ratos Wistar machos (n = 6). Uma hora antes da injeção de carragenina, o extrato de *P. acutifolia* foi administrado (v.o.) nas doses de 100, 200 e 400 mg/kg (Winter et al., 1962). O grupo controle recebeu 10 mL/kg de salina (v.o.). Na pata esquerda, usada como controle, foi injetada 0,1 mL de salina estéril. Após quatro horas de injeção de carragenina, a medida do edema foi feita pela diferença entre o volume da água deslocado da pata direita e o da pata esquerda utilizando um pletismômetro. Indometacina (10 mg/kg, v.o.) foi usada como controle positivo do teste.

Pleurisia induzida por carragenina

A pleurisia foi induzida em ratos Wistar pela injeção intrapleural de 0,5 mL, entre a terceira e a quinta costela do lado direito do mediastino, de uma suspensão de carragenina 2% em solução salina estéril (Vinegar et al., 1973). Grupos de seis ratos foram tratados com extrato de *P. acutifolia* (100, 200 e 400 mg/kg, v.o.), indometacina (10 mg/kg, v.o.) ou salina (10 mL/kg, v.o.) uma hora antes da aplicação do agente inflamatório. Quatro horas após a indução da inflamação, os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (75 mg/kg) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg) e sacrificados. Uma incisão foi feita entre a terceira e quinta costela em cada lado do mediastino. O exsudato pleural foi coletado, transferido a um tubo cônico de centrífuga e o volume foi determinado. Uma alíquota de 50 μ L do exsudato foi usada para determinar a contagem total de leucócitos em câmara de Neubauer.

Análise estatística

Os resultados foram demonstrados através da média erro padrão da média. Análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Student Newman-Keuls foi utilizada para medir o grau de significância ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Segundo o parâmetro observado, o extrato metanólico de *P. acutifolia* não foi tóxico no modelo de animal testado, pois o valor da DL_{50} foi acima de 3 g/kg nas doses testadas. Não foi possível definir com precisão a DL_{50} , no entanto, este resultado serviu como base para estabelecer as doses nos experimentos farmacológicos.

O teste de contorções abdominais mostrou que o extrato dos galhos de *P. acutifolia* inibiu as contorções nas doses administradas (Tabela 1). O extrato causou redução de 13,20% (100 mg/kg), 20,47% (200 mg/kg) e 36,22% (400 mg/kg).

A indometacina inibiu 73,83% as contorções abdominais em relação ao grupo controle.

A injeção intraplantar de formalina promoveu uma resposta característica bifásica (Tabela 2). A duração do tempo de lambida na primeira fase (0-5 min) foi de $88,00 \pm 2,80$ s e na segunda fase (15-30 min) foi de $92,40 \pm 2,78$ s para o grupo controle. Após 60 minutos de tratamento, a dose de 400 mg/kg do extrato metanólico de *P. acutifolia* inibiu a primeira fase em 25,57%. As doses de 200 mg/kg ($78,60 \pm 1,78$) e 400 mg/kg ($54,90 \pm 1,88$) produziram diminuição significativa do tempo de lambida durante a segunda fase. Como esperado, a morfina (1 mg/kg) foi ativa em ambas as fases.

O extrato metanólico de *P. acutifolia* aumentou o tempo de permanência de camundongos expostos à placa quente (Tabela 3). No tempo zero, não houve efeito significativo quando comparado ao grupo controle. Na Tabela 3, é mostrado que a dose de 400 mg/kg aumentou o tempo de permanência ($p < 0,05$) a partir de 30 minutos, enquanto a dose de 200 mg/kg teve efeito significativo após 90 minutos

de tratamento. A naloxona, antagonista opióide, reduziu o efeito da morfina, mas não alterou o efeito analgésico do extrato testado.

O efeito antiinflamatório do extrato metanólico de *P. acutifolia* avaliado pelo método do edema de pata induzido por carragenina é mostrado na Tabela 4. A inibição do edema foi observada nas doses de 100 mg/kg (12,92%), 200 mg/kg (13,04%) e 400 mg/kg (23,91%) em relação ao controle. A indometacina reduziu o edema de pata em 54,35%.

Os efeitos sobre a pleurisia demonstraram que as doses testadas reduziram, significativamente, o volume do exsudato e o nº de leucócitos totais (Tabelas 5 e 6). O volume do exsudato foi reduzido em 8,62, 17,24 e 21,55% nas doses de 100, 200 e 400 mg/kg, respectivamente, em comparação a solução salina. A inibição da migração leucocitária ocorreu nas doses de 100 mg/kg ($20,53 \pm 0,64$), 200 mg/kg ($19,92 \pm 0,35$) e 400 mg/kg ($19,25 \pm 0,37$). Não houve diferença significativa entre polimorfonucleares e mononucleares em relação ao controle. A indometacina reduziu o volume do exsudato e a migração leucocitária.

Tabela 1 - Efeito do extrato metanólico de *P. acutifolia* sobre as contorções abdominais induzidas por ácido acético (n = 8).

Grupos	Doses (mg/kg)	Número de Contorções	Inibição (%)
Controle	Salina	$63,50 \pm 2,69$	-
	100	$55,12 \pm 1,42^*$	13,20
Extrato Metanólico	200	$50,50 \pm 1,50^{***}$	20,47
	400	$40,50 \pm 2,12^{***}$	36,22
Indometacina	10	$16,62 \pm 1,44^{***}$	73,83

***P < 0,001. Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Student Newman-Keuls quando comparados ao controle.

Tabela 2 - Efeito do extrato metanólico de *P. acutifolia* sobre o tempo de reação da lambida da pata induzido por formalina (n = 8).

Grupos	Doses (mg/kg)	Tempo de Reação (s)			
		1ª Fase (s)	Inibição (%)	2ª Fase (s)	Inibição (%)
Controle	Salina	$88,00 \pm 2,80$	-	$92,40 \pm 2,78$	-
	100	$86,00 \pm 1,58$	-	$89,40 \pm 1,95$	-
Extrato Metanólico	200	$83,75 \pm 1,71$	-	$78,60 \pm 1,78^{***}$	14,93
	400	$65,50 \pm 1,66^{***}$	25,57	$54,90 \pm 1,88^{***}$	40,58
Morfina	1	$17,12 \pm 1,75^{***}$	80,54	$19,90 \pm 1,65^{***}$	78,46

***P < 0,001. Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Student Newman-Keuls quando comparados ao controle.

Efeitos do extrato de *Posoqueria acutifolia*

Tabela 3 - Efeito do extrato metanólico de *P. acutifolia* sobre o tempo de latência de camundongos expostos à placa quente (n = 8).

Grupos	Doses (mg/kg)	Tempo de Latência (s)			
		Zero	30'	60'	90'
Controle	Salina	6,12±0,83	6,62±0,68	6,62±0,50	6,75±0,49
	100	6,50±0,57	6,50±0,68	6,87±0,70	7,62±0,65
Extrato Metanólico	200	6,12±0,91	8,12±0,61	8,37±0,70	8,50±0,62*
	400	6,75±0,53	10,75±0,99**	13,00±1,03***	14,37±0,90***
Morfina	1	6,50±0,68	16,25±0,88***	20,25±0,99***	24,25±0,80***
Naloxona+Morfina	1+1	6,62±0,65	13,87±0,64***	12,00±1,00***	8,37±0,59
Naloxona+Extrato	1+400	6,87±0,44	10,25±0,78**	11,75±0,59***	12,62±0,73***

*P < 0,05; **P < 0,01; ***P < 0,001. Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Student Newman-Keuls quando comparados ao controle.

Tabela 4 - Efeito do extrato metanólico de *P. acutifolia* sobre o edema de pata induzido por carragenina (n = 6).

Grupos	Doses (mg/kg)	Volume Deslocado (mL)	Inibição (%)
Controle	Salina	0,92±0,03	-
	100	0,88±0,05	12,92
Extrato Metanólico	200	0,80±0,04*	13,04
	400	0,70±0,06**	23,91
Indometacina	10	0,42±0,03***	54,35

*P < 0,05; **P < 0,01 ***P < 0,001. Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Student Newman-Keuls quando comparados ao controle.

Tabela 5 - Efeito do extrato metanólico de *P. acutifolia* sobre o volume do exsudato da pleurisia induzida por carragenina (n = 6).

Grupos Experimentais	Doses (mg/kg)	Volume do exsudato (mL)	
		Média±E.P.	Inibição (%)
Controle	Salina	2,32±0,16	-
	100	2,12±0,14	8,62
Extrato Metanólico	200	1,92±0,07*	17,24
	400	1,82±0,06*	21,55
Indometacina	10	1,17±0,09***	49,57

*P < 0,05; ***P < 0,001. Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Student Newman-Keuls quando comparados ao controle.

Tabela 6 - Efeito do extrato metanólico de *P. acutifolia* sobre o nº de leucócitos totais no exsudato da pleurisia induzida por carragenina (n = 6).

Grupos Experimentais	Doses (mg/kg)	Leucócitos Totais x 10 ³ /mm ³	
		Média±E.P.	Inibição (%)
Controle	Salina	24,80±0,24	-
	100	20,53±0,64***	17,22
Extrato Metanólico	200	19,92±0,35***	19,68
	400	19,25±0,37***	22,38
Indometacina	10	12,86±0,36***	41,85

***P < 0,001. Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Student Newman-Keuls quando comparados ao controle.

DISCUSSÃO

Baseado nos resultados observados neste estudo, o extrato metanólico de *P. acutifolia* possui propriedades analgésicas sobre o sistema nervoso periférico e central, sendo pela primeira vez descrito na literatura. Os resultados demonstram que o extrato reduziu as contorções abdominais, sugerindo a inibição da síntese de prostaglandinas pela via da ciclooxigenase (Duarte et al., 1992). Além disso, foi observado um efeito central e periférico através de uma resposta bifásica do tempo da lambida da pata induzida por formalina (Hunskar & Hole, 1987). A ação central foi confirmada no teste da placa quente na dose de 200 mg/kg, mostrando que o efeito máximo é alcançado após 90 minutos da resposta. Os resultados também sugeriram que a ação analgésica do extrato não é exclusivamente dependente do sistema opióide, pois o tratamento com naloxona, antagonista opióide, não reverteu totalmente o efeito produzido. O teste do tempo da lambida da pata também indicou atividade antiinflamatória.

A atividade antiinflamatória do extrato metanólico de *P. acutifolia* sugerida no teste da formalina foi confirmada pelo modelo do edema da pata induzido por carragenina através da redução do volume deslocado (Tabela 4). Como agente inflamatório, a carragenina induz inflamação pela liberação de prostaglandinas, ocasionando a formação de edema. Antiinflamatórios não-esteróides, como a indometacina, inibem a ciclooxigenase, reduzindo a biossíntese de prostaglandina (Farsam et al., 2000). Provavelmente, o extrato testado possui ação semelhante a este antiinflamatório, porém mais testes são necessários para comprovar esta afirmação.

A injeção de carragenina ocasiona a formação do exsudato na cavidade pleural (Ammendola et al., 1975; Almeida et al., 1980) e a migração leucocitária (Almeida et al., 1980; Compasso et al., 1975). É um método bastante interessante, pois avalia o infiltrado inflamatório e confirma os resultados obtidos no edema de pata. Os antiinflamatórios

não-esteróides, tal como a indometacina, inibem o acúmulo do exsudato e a mobilização de leucócitos entre três e seis horas após aplicação da carragenina (Vinegar et al., 1973). Ao reduzir o volume do exsudato e a migração leucocitária, o extrato metanólico de *P. acutifolia* corroborou com os resultados do edema de pata (Tabelas 3, 4 e 5).

Em acordo com os resultados obtidos, concluímos que o extrato metanólico dos galhos de *P. acutifolia* demonstrou ter efeitos analgésico e antiinflamatório nos métodos empregados, sugerindo suas potencialidades para fins terapêuticos. Os resultados podem estar relacionados ao seu uso na medicina popular, entretanto, novos estudos necessitam ser realizados para garantir o uso seguro pela população.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos a UFJF pelas bolsas institucionais de iniciação científica.

ABSTRACT

Pharmacological and toxic effects of Posoqueria acutifolia Mart. (Rubiaceae) extract in rodents

In the present study, the pharmacological and toxic effects on mice of methanol extract of branches of the Brazilian tree *Posoqueria acutifolia* were investigated. The tests carried out were acetic acid induced writhing, paw licking induced by formalin, hot plate, paw edema and pleurisy, as well as in acute toxicity test. Doses of 100, 200 and 400 mg/kg inhibited the abdominal contortions. In the formalin test, the first phase of paw licking was shortened at the dose of 400 mg/kg, while the second phase was significantly affected by 200 and 400 mg/kg. The time of reaction to the hot plate increased

with 400 mg/kg, although 200 mg/kg had a significant effect after 90 min of treatment. All doses of the methanolic extract reduced the paw edema, the volume of the exsudate and the leukocyte migration. The tested extract showed low acute toxicity to mice. It was concluded that (or thus) the methanol extract of *P. acutifolia* branches possess analgesic and anti-inflammatory activity, which could justify the popular medicinal application of this plant.

Keywords: *Posoqueria acutifolia*; Rubiaceae; analgesic effect; anti-inflammatory effect; acute toxicity.

REFERÊNCIAS

- Almeida AP, Bayer BM, Horakova Z, Beaven MA. Influence of indomethacin and other anti-inflammatory drugs on mobilization and production of neutrophils: studies with carrageenan-induced inflammation in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 214:74-9.
- Ammendola G, Di Rosa GM, Sorrentino L. Leucocyte migration and lysosomal enzymes release in rat carrageenin pleurisy. *Agents Actions* 1975; 5:250-5.
- Anderson, L. A provisional checklist of neotropical Rubiaceae. *Scripta Bot Belg* 1992; 1:1-199.
- Chao PDL, Svoboda GH. Two new iridoids from *Posoqueria latifolia*. *J Nat Prod* 1980; 43:571-6.
- Chiquieri A, Di Maio FR, Peixoto AL. A distribuição geográfica da família Rubiaceae Juss. na *Flora Brasileira* de Martius. *Rodriguesia* 2004; 55:47-57.
- Collier HDJ, Dinnin LC, Johnson CA, Schneider C. The abdominal response and its suppression by analgesic drug in the mouse. *Br J Pharmacol Chemother* 1968; 32:295-310.
- Compasso F, Dunn CJ, Yamamoto S, Willoughby DA, Giroud JP. Further studies on carrageenan-induced pleurisy in rats. *J Pathol* 1975; 116:117-24.
- Dietrich L. A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch Toxicol* 1983; 54:275-87.
- Duarte IDG, Ferreira-Alves DL, Nakamura-Craig M. Possible participation of endogenous opioid peptides on the mechanism involved in analgesia by vouacapan. *Life Sci* 1992; 50:891-7.
- Eddy NB, Leimbach D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. *J Pharmacol Exp Ther* 1953; 107:385-93.
- Farsam H, Amanlou M, Dehpour AR, Jahaniani F. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Biebersteinia multifida* DC. root extract. *J Ethnopharmacol* 2000; 71:443-7.
- Fenner R, Betti AH, Mentz LA, Rates SMK. Plantas utilizadas na medicina popular com potencial atividade antifúngica. *Rev Bras Cienc Farm* 2006; 42:369-94.
- Hunnskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain* 1987; 30:103-4.
- Koster R, Anderson M, Beer EJ. Acetic acid for analgesic screening. *Fed Proc* 1959;18:412.
- Litchfield JT, Wilcoxon FA. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Ther* 1949; 96:99-113.
- Macias LFN. Revisão taxonômica do gênero *Posoqueria* Aubl. (Rubiaceae) [Dissertação]. Campinas: Instituto de Biologia, UNICAMP; 1988.
- Pereira MS, Barbosa MRV. A família Rubiaceae na Reserva Biológica Guaribas, Paraíba, Brasil. Subfamílias Antirheoideae, Cinchonoideae e Ixoroideae. *Acta Bot Bras* 2004; 18:305-18.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM. *Farmacologia*. 4ª.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. 703p.
- Robbrecht E. Tropical woody Rubiaceae. *Opera Bot Belg* 1988; 1:1-271.
- Soares Júnior DT, Campos AC, Dutra RC, Barbosa NR, Sousa OV. Efeito do extrato metanólico de *Posoqueria acutifolia* Mart. (Rubiaceae) sobre o edema de pata e a migração leucocitária induzida em ratos. *XIV Congresso Paulista de Farmacêuticos e VI Seminário Internacional de Farmacêuticos*. São Paulo: Conselho Regional de Farmácia de São Paulo; 2005. p. 88-9.
- Vinegar R, Traux JF, Selph JL. Some quantitative temporal characteristic of carrageenin-induced pleurisy in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 1973; 143:711-4.
- Winter CA, Riskey EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962; 111:544-7.