

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS  
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

SOPHIA PAIVA PASSINI

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANALGÉSICO E ANTI-INFLAMATÓRIO DO ÁCIDO  
CÓSTICO EM MODELOS DE DOR E HIPERALGESIA EM RATOS**

UBERLÂNDIA  
2024

SOPHIA PAIVA PASSINI

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANALGÉSICO E ANTI-INFLAMATÓRIO DO ÁCIDO  
CÓSTICO EM MODELOS DE DOR E HIPERALGESIA EM RATOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Biomedicina.

Área de concentração: Fisiologia Geral

Orientadora: Dra. Celina Monteiro da Cruz Lotufo

UBERLÂNDIA

2024

SOPHIA PAIVA PASSINI

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANALGÉSICO E ANTI-INFLAMATÓRIO DO ÁCIDO  
CÓSTICO EM MODELOS DE DOR E HIPERALGESIA EM RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Biomedicina.

Área de concentração: Fisiologia Geral

Uberlândia, fevereiro de 2024.

Banca Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Celina Monteiro da Cruz Lotufo (UFU)

---

Dr<sup>a</sup> Débora de Oliveira Santos (UFU)

---

Dr<sup>a</sup> Simone Ramos Deconte (UFU)

Dedico este trabalho às pessoas que possam encontrar utilidade e benefício em sua pesquisa, contribuindo assim para o avanço do conhecimento.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço de coração a todas as pessoas e instituições que tornaram possível a conclusão deste Trabalho de Conclusão de Curso. Esta jornada acadêmica foi desafiadora e gratificante, e não teria sido bem-sucedida sem o apoio de tantos.

Primeiramente, quero expressar minha profunda gratidão a minha orientadora, Celina Lotufo, pela orientação, paciência e apoio contínuo ao longo deste processo.

Também gostaria de agradecer à minha família, principalmente meu pai, que sempre acreditou em mim e me incentivou a perseguir a educação. Seu amor, apoio e compreensão foram minha âncora nos momentos mais desafiadores.

Aos meus amigos e colegas de curso, obrigado por compartilharem suas experiências e conhecimentos, tornando esta jornada mais rica e inspiradora.

Agradeço à Universidade Federal de Uberlândia por proporcionar os recursos e o ambiente propício para o meu crescimento acadêmico.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para este projeto, direta ou indiretamente. Este trabalho não teria sido o mesmo sem a colaboração de todos vocês.

A conclusão deste TCC é um marco significativo em minha vida acadêmica, e estou profundamente grata por todo o apoio e incentivo que recebi ao longo do caminho. Espero que este trabalho possa contribuir de alguma forma para o conhecimento em nossa área de estudo.

Obrigado a todos que fizeram parte desta jornada.

*“Na vida, não existe nada a temer, mas a entender.”*

- Marie Curie

## RESUMO

**Introdução:** As plantas medicinais são fontes cruciais para descoberta de novos princípios ativos com potencial ação para tratamento de diversas doenças. Um exemplo de fitoterápico é o ácido cóstico, um sesquiterpeno presente em várias plantas, como a *Dittrichia viscosa*. Resultados publicados indicam um efeito anti-inflamatório desse extrato em um modelo de inflamação crônica. Dessa forma, a hiperalgesia resulta em um aumento da sensibilidade dolorosa é um componente crucial na resposta inflamatória, sendo o principal motivador pela busca de tratamentos anti-inflamatórios. **Objetivos:** Avaliar o potencial analgésico, inflamatório e/ou anti-hiperalgésico do ácido cóstico. **Métodos:** O potencial analgésico da molécula foi avaliado através do teste da capsaicina em patas de ratos e o potencial anti-inflamatório e anti-hiperalgésico foi investigado utilizando o modelo de inflamação induzida pela injeção de carragenina na pata de ratos, por meio da medida do limiar de sensibilidade mecânica (von Frey eletrônico) e a avaliação do volume da pata utilizando o pletismômetro. Além disso, examinou-se o possível efeito do ácido cóstico sobre o potencial de membrana neuronal em culturas primárias de neurônios dos gânglios da raiz dorsal de ratos, utilizando um corante fluorescente sensível à voltagem (DiBAC<sub>4</sub>(3)). **Resultados:** O ácido cóstico, nas doses testadas não teve impacto na nocicepção induzida por capsaicina. No entanto, demonstrou a capacidade de diminuir a hiperalgesia, sugerindo um efeito anti-inflamatório. Além disso, em culturas primárias de gânglio da raiz dorsal de ratos, o ácido cóstico provocou uma despolarização neuronal de pequena intensidade, apenas quando administrado na concentração mais elevada testada. Contudo, essa despolarização parece não ter efeitos significativos *in vivo*, considerando o efeito do ácido cóstico sobre a nocicepção. **Conclusão:** O ácido cóstico apresentou propriedades anti-inflamatórias, porém não demonstrou efeito analgésico.

**Palavras-chave:** Dor, inflamação, ácido cóstico, produtos naturais, nocicepção, gânglio da raiz dorsal

## ABSTRACT

**Introduction:** Medicinal plants are crucial sources for discovering new active ingredients used to treat various diseases. An example of herbal medicine is costic acid, a sesquiterpene present in several plants, such as *Dittrichia viscosa*. Published results indicate an anti-inflammatory effect of this extract in a model of chronic inflammation. Thus, hyperalgesia that results in increased pain sensitivity is a crucial component in the inflammatory response, being the main motivator for the search for anti-inflammatory treatments. **Objectives:** Evaluate the analgesic or antihyperalgesic potential of costic acid. **Methods:** The analgesic potential of the molecule was evaluated through the capsaicin test on rat paws and the anti-inflammatory and antihyperalgesic potential was investigated using the inflammation model induced by the injection of carrageenan into the rat paw, by measuring the mechanical sensitivity threshold (electronic von Frey) and evaluating the paw volume using the plethysmometer. Furthermore, the possible effect of costic acid on neuronal membrane potential in primary cultures of rat dorsal root ganglia neurons was examined using a voltage-sensitive fluorescent (DiBAC<sub>4</sub>(3)). **Results:** Costic acid, at the dosage tested, had no impact on capsaicin-induced nociception. However, it demonstrated the ability to decrease hyperalgesia, suggesting an anti-inflammatory effect. Furthermore, in primary cultures of rat dorsal root ganglion, costic acid caused a low intensity neuronal depolarization, only when administered at the highest concentration tested. However, this depolarization does not seem to have significant effects *in vivo*, considering the effect of costic acid on nociception. **Conclusion:** Costic acid showed anti-inflammatory properties, but did not demonstrate an analgesic effect.

**Keywords:** Pain, inflammation, costic acid, natural products, nociception, dorsal root ganglion

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Estrutura química do ácido cóstico.....	16
<b>Figura 2.</b> Von Frey eletrônico sendo aplicada na pata traseira de um rato.....	21
<b>Figura 3.</b> Pletismografia para avaliação do edema de pata.....	22
<b>Figura 4.</b> Teste de nocicepção induzida por capsaicina.....	24
<b>Figura 5.</b> Teste de hiperalgesia induzida por carragenina.....	25
<b>Figura 6.</b> Modelo In Vivo de Edema Inflamatório.....	26
<b>Figura 7.</b> Efeito do ácido cóstico e da capsaicina sobre o potencial de repouso de neurônios sensoriais primários.....	27

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Ácido acetilsalicílico
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroides
COX	Ciclooxigenases
EPM	Erro padrão médio
GRD	Gânglio da raiz dorsal
GT	Gânglio trigêmeo
IASP	Associação Internacional para o Estudo da Dor
IFN- $\gamma$	Interferon-gama
IL-8	Interleucina-8
MDC	Quimiocina derivada de macrófagos
NF- $\kappa$ B	Fator nuclear kappa B
OMS	Organização Mundial de Saúde
PG	Prostaglandinas
RANTES	Quimiocina regulada na ativação, células T normais expressas e secretadas
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
TARC	Quimiocina regulada pelo timo e regulada por ativação
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral-alfa
TRPV1	Receptor de potencial transitório vaniloide tipo 1
TTXr	Resistentes à tetrodotoxina
TTXs	Sensíveis à tetrodotoxina
TXA2	Tromboxano A2

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
1.1 Mecanismos fisiológicos da dor .....	11
1.2 Hiperalgisia e dor inflamatória.....	13
1.3 Plantas medicinais e fitoterápicos na dor .....	14
1.4 O ácido cóstico.....	16
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
2.1 Objetivo Geral .....	18
2.2 Objetivos Específicos .....	18
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	<b>19</b>
3.1 Aspectos éticos .....	19
3.2 Animais .....	19
3.3 Drogas utilizadas.....	19
3.4 Testes comportamentais.....	19
3.4.1 Teste de nocicepção induzido por capsaicina.....	19
3.4.2 Teste da hiperalgisia induzida por carragenina.....	20
3.4.2.1 Teste de pressão crescente: von Frey eletrônico.....	20
3.4.2.2 Modelo In Vivo de Edema Inflamatório.....	21
3.5 Cultura primária de gânglio da raiz dorsal de ratos .....	22
3.6 Análise estatística .....	23
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>24</b>
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>31</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>32</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Mecanismos fisiológicos da dor

A dor é descrita pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada ou que lembra aquela associada a danos reais ou potenciais nos tecidos. Ela pode exibir uma ampla gama de intensidades, qualidades e durações, abrangendo uma variedade de mecanismos e significados fisiopatológicos (Raja *et al.*, 2020). A via de transmissão da dor está associada com a nocicepção que oferece ao sistema nervoso central (SNC) um mecanismo de identificar e evitar estímulos prejudiciais e potencialmente danosos.

A sensação de dor pode ser categorizada em: dor nociceptiva, que pode ser aguda ou crônica, e dor neuropática (Armstrong *et al.*, 2023). A dor aguda é gerada por estímulos nocivos mecânicos, térmicos ou químicos que acionam os nociceptores. Caso haja a ativação persistente ou mal funcionamento desse sistema nociceptivo, pode ser desenvolvida a dor crônica. A dor crônica pode manifestar-se espontaneamente ou ser provocada por vários estímulos exógenos, com resposta tipicamente exagerada em duração, amplitude ou ambas para uma doença ou injúria. A dor neuropática é o resultado de um funcionamento anormal do sistema nervoso devido a lesões ou doenças, como neuropatia diabética, herpes zoster ou neuralgia pós-herpética (Armstrong *et al.*, 2019; Grace *et al.*, 2021; Klaumann *et al.*, 2008).

Nos mamíferos, os neurônios nociceptivos, denominados nociceptores, têm seus corpos celulares no sistema nervoso periférico (SNP), nos gânglios da raiz dorsal (GRD) e gânglios trigêmeos (GT) (Tracey, 2017). Esses neurônios nociceptores são categorizados como fibras C ou A, frequentemente subdivididos com base em critérios moleculares e eletrofisiológicos. As fibras C são neurônios amielínicos de pequeno diâmetro que possuem uma velocidade de condução mais lenta. Essas fibras formam feixes de Remak em associação com as células de Schwann não mielinizantes. As fibras A $\delta$  são neurônios finamente mielinizadas com uma velocidade de condução mais rápida (Middleton *et al.*, 2021).

A ativação de receptores específicos e canais iônicos, encontrados em muitos tecidos e órgãos, nas terminações nervosas periféricas em resposta a estímulos

químicos, mecânicos ou térmicos, inicia o desencadeamento de um potencial de ação que percorrerá todo o comprimento do axônio das fibras aferentes primárias até alcançar os pontos de sinapse na medula espinhal. Os canais de sódio e potássio dependentes de voltagem são essenciais para gerar os potenciais de ação que transmitem sinais de nociceptores para sinapses no corno dorsal. Os canais de sódio são classificados em: sensíveis à tetrodotoxina (TTXs) e os resistentes à tetrodotoxina (TTXr). Os TTXs estão presentes nas fibras A $\delta$ , em todo sistema nervoso e no gânglio da raiz dorsal; e os TTXr, são encontrados nas fibras C do gânglio da raiz dorsal. Os canais de cálcio dependentes de voltagem contribuem pela liberação de neurotransmissores, como o glutamato e a substância P, os quais, por sua vez, ativam os neurônios localizados na medula espinhal (Basbaum *et al.*, 2009; McKune *et al.*, 2015; Rocha *et al.*, 2007).

As fibras nervosas aferentes primárias têm projeções específicas no corno dorsal da medula espinhal, que se organiza em lâminas distintas tanto do ponto de vista anatômico quanto eletrofisiológico. Os nociceptores A $\delta$  têm projeções na lâmina I e V, os aferentes A $\beta$ , responsáveis por detectar estímulos táteis e proprioceptivos, projetam-se nas camadas profundas da medula (III, IV e V) e os nociceptores C têm projeções mais superficiais, localizando-se nas lâminas I e II. Os neurônios localizados nas lâminas I e V desempenham um papel central na transmissão de informações do corno dorsal da medula espinhal para o cérebro. Esses neurônios são responsáveis por diversas vias ascendentes, incluindo os tratos espinotalâmicos e espinoreticulotalâmicos, que conduzem sinais de dor ao tálamo e ao tronco cerebral, respectivamente. A partir dessas regiões do tronco cerebral e do tálamo, as informações são então encaminhadas para as estruturas corticais. Como resultado, a experiência da dor emerge da ativação de um conjunto diversificado de estruturas, algumas das quais estão mais relacionadas com aspectos sensoriais e discriminativos (como o córtex somatossensorial), enquanto outras estão mais envolvidas com aspectos emocionais da dor (como o giro cingulado anterior e o córtex insular) (Basbaum *et al.*, 2009).

## 1.2 Hiperalgisia e dor inflamatória

A sensibilidade do sistema nociceptivo é modificada após estímulos nocivos repetidos ou, principalmente, através da ação de mediadores inflamatórios produzidos após lesão tecidual. Esse processo de sensibilização, denominado de hiperalgisia, tem como função proteger o tecido lesionado (Latremoliere *et al.*, 2009). Na persistência da agressão tecidual, a fosfolipase A2 desencadeia a liberação de ácido araquidônico dos fosfolípidios da membrana. Esse composto pode ser alvo de duas enzimas distintas: as ciclooxigenases (COX-1 e COX-2), resultando na produção de prostaglandinas (PG), tromboxano A2 (TXA2), prostaciclina e as lipoxigenases, responsáveis pela síntese de leucotrienos (Zappavigna *et al.*, 2020). A produção de prostaglandinas e de leucotrienos leva a degranulação de mastócitos e a ativação direta de fibras nervosas, macrófagos e linfócitos. Outros mediadores inflamatórios também são liberados localmente, como a IL-1 $\beta$ , bradicinina, histamina, e contribuem para as alterações na permeabilidade vascular, no fluxo sanguíneo local e produção dos sinais clássicos inflamatórios de rubor, calor, dor, tumor e perda de função. A dor, neste caso, refere-se ao processo de sensibilização periférica que se manifesta pela diminuição no limiar de ativação e um aumento na capacidade de resposta dos nociceptores, o que aumenta a resposta ao estímulo doloroso ou produz dor frente a estímulos antes não dolorosos (Etienne *et al.*, 2021). Logo, a sensibilização periférica contribui para a sensibilização do sistema nociceptivo e, portanto, para a hipersensibilidade local à dor inflamatória (hiperalgisia primária) (Latremoliere *et al.*, 2009).

Atualmente, as estratégias de controle da dor dependem principalmente de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), anti-inflamatórios esteroides e analgésicos. Esses medicamentos são empregados no tratamento de primeira linha para dores leves ou moderadas (Hu *et al.*, 2022). O principal modo de atuação dos AINEs consiste na inibição da COX, interferindo, desse modo, na conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas E2, prostaciclina e tromboxanos (Lucas *et al.*, 2018). No entanto, o uso contínuo de AINEs pode causar efeitos colaterais graves, incluindo toxicidades gastrointestinais, riscos de alterações cardiovasculares, lesões renais, hepatotoxicidade, como também hipertensão e outros distúrbios menores (Bindu *et al.*, 2020). A utilização de opioides é recomendada no tratamento de dores de intensidade moderada a intensa

(Silva *et al.*, 2020). Os opioides causam efeitos adversos e podem gerar dependência. Esses fármacos podem causar sedação, náusea/vômito, constipação, tolerância, dependência física e depressão respiratória (Crofford, 2010). Portanto, o uso prolongado desses medicamentos precisa ser evitado. Com isso, destaca-se a necessidade de encontrar novas moléculas com propriedades anti-inflamatórias e analgésicas. Uma fonte importante de moléculas com atividade biológica, são os vegetais. Os estudos em botânica demonstram que muitas plantas selecionaram moléculas biologicamente ativas que podem ter usos diversos na farmacologia. Um exemplo de medicamento derivado da área da botânica é o ácido acetilsalicílico (AAS), um dos mais usados e vendidos no mundo. Ele foi criado a partir do salicilato obtido da *Sallix alla* e representa um grande marco do uso de produtos naturais de plantas. Esse medicamento se encontra dentro da classe dos AINEs, no qual apresenta propriedades farmacológicas, como analgésico, antipirético e anti-inflamatórios, usado no tratamento de artrites reumáticas, inibição da agregação plaquetária, controle de febre, crise de gota entre outros (Lima; De Oliveira Alvim, 2018).

### **1.3 Plantas medicinais e fitoterápicos na dor**

Há registro em diversas culturas, como a Egípcia, Hindu, Persa, Grega e os povos da América pré-colombiana sobre o uso de plantas medicinais em diversas práticas terapêuticas. Os saberes desses povos contribuíram com os avanços científicos atuais na área de produtos naturais (Da Rocha *et al.*, 2021). Na conferência de Alma-Ata, em 1978, a Organização Mundial de Saúde (OMS) já alertava sobre a necessidade de regulamentação do uso de plantas medicinais e fitoterápicos, que até então eram baseados em saberes empíricos e experiência popular (Brasil, 2006). Segundo a OMS, as plantas medicinais são todas as espécies vegetais que apresentam em uma ou mais partes, substâncias químicas capazes de desempenhar atividades farmacológicas, auxiliando na cura e/ou tratamento de várias doenças (OMS, 1998). O Brasil é um detentor de grande diversidade biológica, com inúmeras espécies vegetais com potencial medicinal (Dutra, 2009). Um grande avanço nesse sentido foi que o Ministério da Saúde através da Portaria nº 971 de 3 de maio de 2006 disponibilizou opções terapêuticas e preventivas aos usuários do SUS, dentre elas o uso de plantas medicinais e

medicamentos fitoterápicos. Além disso, o Decreto Federal de nº 5.813 de 22 de junho de 2006 instituiu a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que incentiva as pesquisas e dá diretrizes para implantação de serviços em caráter nacional pelas Secretarias de Saúde dos Estados, Distrito Federal e dos Municípios (Brasil, 2006).

Produtos de origem natural ou que possuem uma estrutura semelhante às moléculas encontradas em fontes naturais, como plantas, têm sido utilizados como agentes terapêuticos no tratamento de condições inflamatórias, hipertensão, doenças infecciosas, diabetes e câncer (Newman; Gragg, 2020). Para o tratamento de diversas doenças, tem despertado o interesse na aplicação de plantas nativas e de seus princípios ativos o emprego de infusões e extratos brutos, ou parcialmente purificados, obtidos de cascas, folhas, frutos e raízes de plantas medicinais (Valli; Russo; Bolzani, 2018).

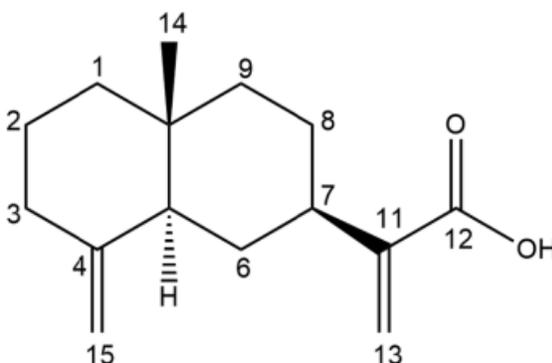
Os produtos derivados de organismos vegetais superiores podem ser agrupados em metabólitos primários ou secundários. Os metabólitos primários são importantes para a manutenção da homeostasia e das funções necessárias a vida das plantas. Em contrapartida, os metabólitos secundários produzidos pelas células vegetais, a partir de vias metabólicas derivadas das vias principais, dão suporte às interações estabelecidas entre o organismo e seu ambiente. Certas categorias de metabólitos têm sido objeto de pesquisa devido ao seu potencial anti-inflamatório, uma vez que têm a capacidade de regular a ativação de vias de sinalização, influenciar a produção de mediadores e controlar o recrutamento de células cruciais no contexto da resposta inflamatória. Exemplo disso são os fenilpropanóides e derivados (lignanas e neolignanas), uma classe de compostos secundários oriunda da rota metabólica do ácido chiquímico, e os terpenóides formados a partir da condensação de moléculas de isopreno ( $C_5H_{10}$ ), sendo classificados de acordo com o número destas unidades (hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, etc.). Muitos fenilpropanóides e terpenóides agem como inibidores do fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), um regulador e ponto de convergência para múltiplas vias de sinalização que desempenham um importante papel no desenvolvimento e manutenção da resposta inflamatória, especialmente na ativação da expressão de COX-2. Ao longo dos anos, várias drogas com efeitos terapêuticos foram desenvolvidas para inibir as COXs. No entanto, os inibidores da COX-1, como o ibuprofeno e o diclofenaco, podem causar toxicidade gástrica indesejada e efeitos nefrotóxicos, enquanto os

inibidores da COX-2, como o celecoxibe, têm menos efeitos colaterais. Neste contexto, fenilpropanóides e lignanas/neolignanas pertencem a uma classe mais ampla de metabólitos especializados usados no desenvolvimento de anti-inflamatórios (Valli; Russo; Bolzani, 2018).

#### 1.4 O ácido cóstico

O ácido cóstico é um componente da *Dittrichia viscosa*, espécie ruderal invasora da família Asteraceae. Essa planta herbácea perene possui ampla distribuição na região mediterrânea. Além da *D. viscosa*, o ácido cóstico foi relatado em outras plantas na literatura, como *Ferula communis* L, *Laggera pterodonta* (DC.) Benth, *Nectandra cissiflora*, Nees, *Nectandra membranacea* (Sw.) Griseb e *Stevia polyphylla* DC (Sofou *et al.*, 2017). Na medicina popular, a *D. viscosa* é conhecida por possuir efeitos anti-inflamatórios, antipiréticos e antiulcerosos gástricos (De La Lustra *et al.*, 1993; Maoz *et al.*, 1999; Schinella *et al.*, 2002). A fórmula molecular do ácido cóstico é C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub>. Sua estrutura possui uma porção carboxilo, um grupo metil e quatro prótons olefínicos, os quais indicam a presença de duas ligações duplas na estrutura de carbono (Sofou *et al.*, 2017).

Figura 1. Estrutura química do ácido cóstico.



Fonte: (LONDERO *et al.*, 2020)

Em um estudo, foram avaliados os efeitos anti-inflamatórios de uma erva medicinal (*Saussurea lappa*) e seus compostos marcadores, entre eles o ácido cóstico, na linhagem celular de queratinócitos humanos HaCaT (Lim *et al.*, 2015). Estas células foram estimuladas com fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) e interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) e

tratadas com *S. lappa* e cada um de seus marcadores. O tratamento com ácido cóstico foi capaz de reduzir significativamente a produção de quimiocinas estimuladas por TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ . Em outro trabalho, examinaram a atividade do ácido cóstico contra o *Trypanosoma cruzi* (Londero *et al.*, 2020). Foi verificado efeito antiparasitário do ácido cóstico e, em análise por citometria de fluxo, foi observada uma despolarização do potencial elétrico da membrana plasmática dos parasitas após o tratamento.

Este projeto faz parte de um projeto maior no qual outros efeitos do ácido cóstico já foram testados. Dados publicados indicam um efeito anti-inflamatório em modelo de inflamação crônica induzida por implante de esponja no dorso de camundongos (Ferreira *et al.*, 2022). A dor é um componente importante da resposta inflamatória e a principal razão para a procura por tratamentos anti-inflamatórios. Por este motivo, pretendemos avaliar o potencial analgésico e/ou anti-hiperalgésico do ácido cóstico de forma a complementar os demais estudos sendo realizados.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

O presente estudo tem como objetivo avaliar o potencial do ácido cístico como analgésico e anti-inflamatório em modelos de dor e hiperalgesia em ratos.

### **2.2 Objetivos Específicos**

**2.2.1** O potencial analgésico da molécula foi avaliado utilizando o teste da capsaicina em patas de ratos.

**2.2.2** O potencial anti-inflamatório e anti-hiperalgésico do ácido cístico foi avaliado através do modelo de inflamação induzida pela injeção de carragenina na pata de ratos. Neste modelo, foram avaliados a hiperalgesia mecânica e o edema.

**2.2.3** O possível efeito do ácido cístico sobre potencial de membrana neuronal foi avaliado em culturas primárias de neurônios dos gânglios da raiz dorsal de ratos utilizando um corante fluorescente sensível à voltagem (DiBAC<sub>4</sub>(3)).

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1 Aspectos éticos**

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) sob protocolo nº 23117.060098/2023-47.

#### **3.2 Animais**

Para a realização dos testes foram utilizados ratos machos Wistar (com média de massa de 200 gramas). Os animais foram acomodados no biotério central da Rede de Biotérios de Roedores – REBIR – da UFU, climatizado em 25 °C (temperatura ambiente) e ciclo de luminosidade controlada em 12h claro e 12h escuro com livre acesso à água e à ração.

#### **3.3 Drogas utilizadas**

Nesse estudo, foram utilizadas três diferentes drogas:

Ácido cístico – Foi utilizada uma concentração de 2 mg/ml do ácido cístico diluído em salina para o trabalho em questão (fornecida em colaboração pelo Prof. Dr. João Henrique Ghilardi Lago).

Capsaicina (Sigma®) – diluída inicialmente em DMSO e aliqüotada na concentração de 100 µg em 5 µl.

Carragenina (Sigma®) – diluída em solução salina estéril (NaCl 0,9%) aproximadamente 30 minutos antes da utilização.

#### **3.4 Testes comportamentais**

##### **3.4.1 Teste de nocicepção induzido por capsaicina**

O teste da capsaicina consiste em um teste de nocicepção no qual podemos avaliar efeitos analgésicos de moléculas (Yang *et al.*, 2017), e foi utilizado para avaliar o efeito do ácido cístico sobre a dor (nocicepção) *in vivo*.

Os animais testados foram subdivididos em 3 grupos com 6 animais cada: o primeiro grupo consistiu no grupo de controle tratado com capsaicina (10 µg) diluída em solução salina estéril (50 µl); o segundo grupo recebeu uma combinação de 5 µg de ácido cístico

e capsaicina (10 µg) e o terceiro grupo foi tratado com 50 µg de ácido cístico juntamente com capsaicina (10 µg). Todos os tratamentos foram realizados por via subcutânea, intraplantar, em um volume de 50 µl injetado nas patas traseiras direitas. Imediatamente após as injeções, o comportamento dos animais foi observado durante 5 minutos. Durante este período foram contadas as reações nociceptivas, sendo estas o chacoalhar da pata (Flinch) e quantidade de lambidas na pata tratada com capsaicina.

### **3.4.2 Teste da hiperalgesia induzida por carragenina**

O teste da carragenina é um modelo de inflamação muito utilizado para avaliação de potenciais agentes anti-inflamatórios. A carragenina é uma substância exógena que induz uma resposta inflamatória típica e bem conhecida na pata de ratos. Assim, esse teste foi utilizado para avaliar o potencial anti-inflamatório do ácido cístico para impedir o desenvolvimento de uma resposta inflamatória já em curso (Moller *et al.*, 1998).

Os animais foram alocados em três grupos com 6 animais cada: o primeiro grupo correspondeu ao grupo controle tratado com solução salina 0,9%, o segundo grupo recebeu uma dose de 5 microgramas de ácido cístico e o terceiro grupo 50 microgramas do ácido cístico.

Foi feita uma injeção intraplantar subcutânea de 50 µL contendo 200 µg de carragenina na pata traseira direita de cada animal. O ácido cístico (5 µg e 50 µg) foi administrado em conjunto com a carragenina. Em todos os grupos (tratados e com salina), foi avaliado o limiar de sensibilidade mecânica (von Frey eletrônico) e o volume da pata por meio do pletismômetro. As mensurações foram realizadas antes da injeção de carragenina (medida basal) e após 1,5 hora e 3 horas da injeção de carragenina.

#### **3.4.2.1 Teste de pressão crescente: von Frey eletrônico**

O uso de filamentos de von Frey (von Frey, 1896) é um método para avaliar a sensibilidade tecidual ao estímulo mecânico bastante utilizado clinicamente (Cunha *et al.*, 2004).

O teste consistiu em aplicar a ponteira Universal Tips 10 µL (T-300, Axygen®) em ângulo reto na região central da pata traseira do animal com uma pressão gradualmente crescente, o que provocou uma resposta de flexão característica. O estímulo foi

interrompido após a observação da resposta, na qual o animal retira e agita a pata. A pressão registrada no aparelho no momento do reflexo do animal é considerada como o limiar mecânico nociceptivo. Durante os experimentos, os animais foram mantidos em caixas acrílicas medindo 12 x 100 x 17 cm de altura, com assoalho formado por uma rede de malhas medindo cerca de 5 mm<sup>2</sup> constituída de arame não maleável de 1 mm de diâmetro. Essas caixas foram mantidas a cerca de 25 cm da superfície de uma bancada, de modo que a estimulação da pata traseira dos animais fosse realizada. Antes de iniciar o experimento, os animais permaneceram nessas caixas por quinze minutos para a adaptação. A sensibilidade mecânica foi obtida pela média de 4 medidas de cada pata.

Figura 2. Von Frey eletrônico sendo aplicado na pata traseira de um rato.



Fonte: (Site DOL - Dor On Line – [www.dol.inf.br](http://www.dol.inf.br))

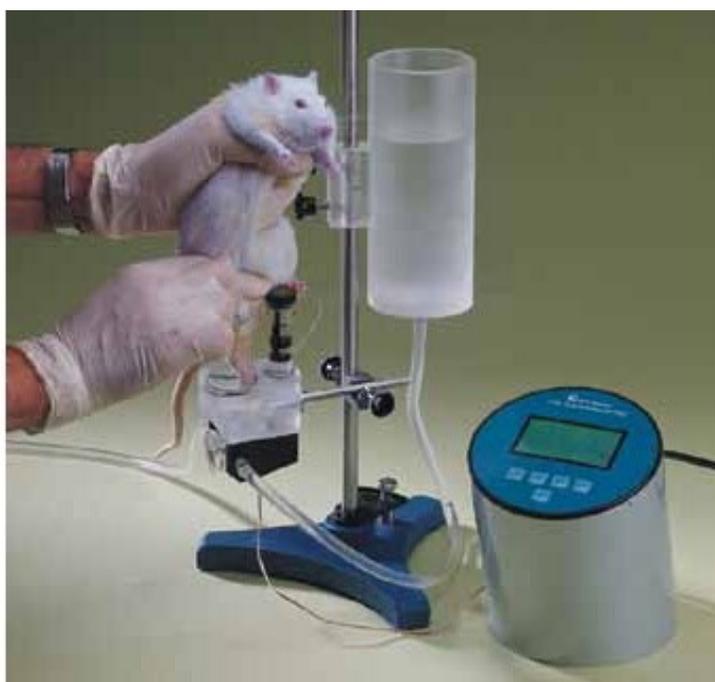
#### **3.4.2.2 Modelo In Vivo de Edema Inflamatório**

A técnica utilizada para estimar o edema na pata é o deslocamento de volume por meio de um pletismômetro (Ugo Basile 7140), que se revela o método mais eficaz para avaliar o impacto anti-inflamatório de uma substância. Esse dispositivo, conhecido como pletismômetro, consiste em uma célula Perspex cheia de água na qual a pata traseira do rato é imersa, junto com um transdutor responsável por registrar as mínimas variações no nível da água causadas pelo edema. Além disso, um medidor digital está presente

para indicar com precisão o volume de água deslocado devido ao edema na pata traseira dos ratos (Rajput *et al.*, 2021).

O inchaço foi estimado como mL de edema em diferentes intervalos de tempo, ou seja, foi anotado o volume da pata antes da administração de carragenina e a cada 1,5 hora até a terceira hora após a injeção de carragenina.

Figura 3. Pletismografia para avaliação do edema de pata.



Fonte: (Ugo Basile Plethysmometer – Global Bio Inc – [www.glo-bio-inc.com](http://www.glo-bio-inc.com))

### 3.5 Cultura primária de gânglio da raiz dorsal de ratos

Os experimentos em culturas primárias de gânglio da raiz dorsal foram realizados através da avaliação de 2 placas por grupo experimental, sendo as culturas obtidas de 2 diferentes animais. A quantidade de placas foi proposta de acordo com experiência prévia do grupo (Lima *et al.*, 2019). Ao final, foram obtidas 6 placas de cultura por animal experimental.

Inicialmente, os ratos foram anestesiados profundamente por inalação de Isoflurano (5% em oxigênio) através do sistema de anestesia inalatória da Bonther e em

seguida eutanasiados e exsanguinados por decapitação. Em seguida, os gânglios da raiz dorsal da região lombar e torácica foram removidos (cerca de 12 gânglios por animal), dissecados e colocados em solução salina de Hank's estéril com 10 mM de tampão HEPES. Os gânglios foram incubados com solução salina de Hank's contendo 0,28 U/ml de colagenase a 37°C por 75 minutos e depois por 12 minutos em solução contendo 0,25 mg/ml de tripsina. Os gânglios foram lavados em meio DMEM. As células foram dissociadas mecanicamente com uma pipeta pasteur de vidro e cultivadas em placas cobertas com Matrigel e mantidas em estufas em atmosfera de 5% CO<sub>2</sub> e a 37°C. Após 12-72 horas, as culturas foram incubadas com indicador fluorescente para avaliação de potencial de membrana DiBAC<sub>4</sub>(3) e levadas para o microscópio confocal onde foram administrados os reagentes: ácido cístico (10 µM ou 100 µM) ou veículo. Foi registrada uma sequência de imagens durante 5 minutos e o ácido cístico foi administrado logo após a captação de imagens basais. Após os 5 minutos de teste, foi realizado um controle positivo com administração de capsaicina (1µM) na mesma placa e captação de imagens por mais 2 minutos. Este controle permite a identificação de neurônios nociceptivos funcionais, visto que o receptor para a capsaicina, receptor de potencial transitório vaniloide tipo 1 (TRPV1) é expresso seletivamente por este tipo de neurônios. As substâncias testadas foram aplicadas durante registro sequencial de imagens as quais foram posteriormente analisadas e quantificadas utilizando o software Image J (NIH).

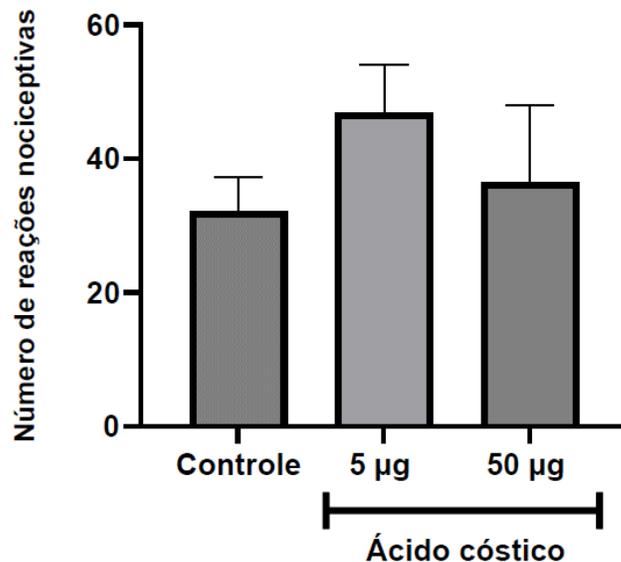
### **3.6 Análise estatística**

Após análise da normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, as médias foram comparadas através de teste t ou ANOVA seguida de teste de Bonferroni, no caso de comparação entre mais de duas médias. Caso os dados obtidos não apresentassem distribuição normal, foram utilizados os testes de Mann-Whitney ou o teste de Kruskal-Wallis, de acordo com a quantidade de médias a serem comparadas. Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados significantes. As análises estatísticas e a construção dos gráficos foram feitas utilizando-se o programa GraphPad Prism10.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Teste de nociceção induzido por capsaicina

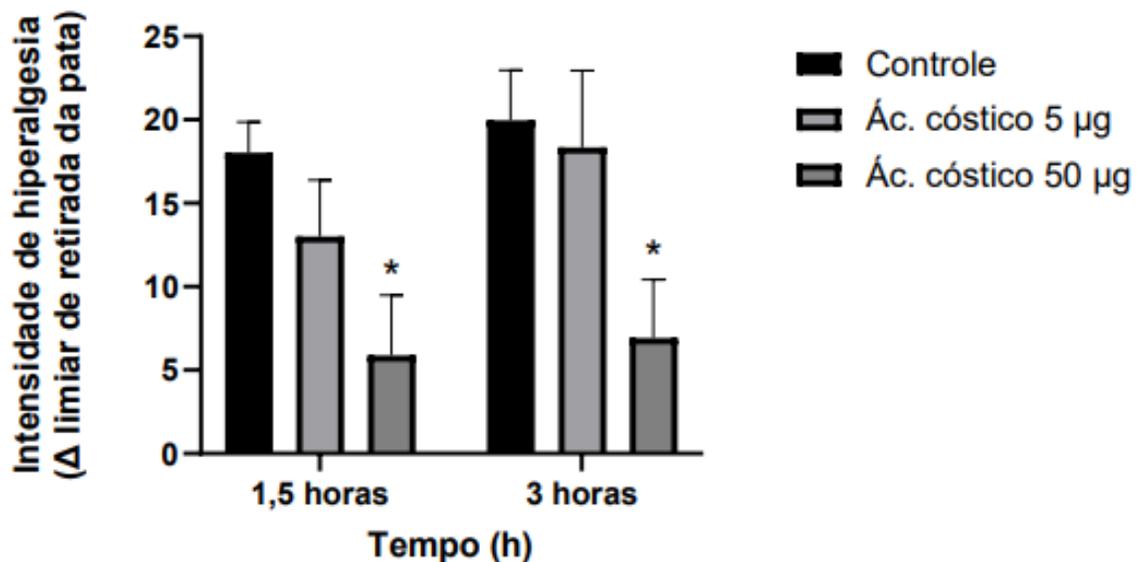
Inicialmente, a aplicação de capsaicina causa estimulação de neurônios sensoriais produzindo sensação de dor em queimação e vasodilatação (Jancsó; Sántha, 2015). Para avaliar a dor direta nos neurônios, sem inflamação, utilizou-se o teste da capsaicina. Investigou-se neste teste se o ácido cístico poderia afetar a nociceção causada pela capsaicina. A administração subcutânea intraplantar do ácido cístico (5  $\mu\text{g}$  e 50  $\mu\text{g}$ ), em um volume de 50  $\mu\text{l}$ , juntamente com a capsaicina (10  $\mu\text{g}$ ) nas patas traseiras direitas, não causou alteração significativa no número de reações nociceptivas nos grupos de animais analisados. Portanto, conclui-se que o ácido cístico não teve impacto na nociceção induzida pela capsaicina.



**Figura 4: Teste de nociceção induzida por capsaicina.** As reações nociceptivas foram avaliadas durante 5 minutos após administração de capsaicina (10  $\mu\text{g}$  em 50  $\mu\text{l}$ , intraplantar). O ácido cístico (5  $\mu\text{g}$  e 50  $\mu\text{g}$ ) ou veículo (salina) foi administrado por via intraplantar na mesma injeção da capsaicina (50  $\mu\text{l}$ ). Está sendo mostrada a média (n=6) e o erro padrão médio (EPM). As médias foram comparadas através do teste ANOVA seguida por teste Bonferroni.

#### 4.2 Teste da hiperalgesia induzida por carragenina

Ensaio foram conduzidos para avaliar como a administração do ácido cístico impacta o limiar nociceptivo nos animais. O limiar de sensibilidade mecânica foi avaliado em três momentos distintos: basal, 1h30 e 3h. A administração do ácido cístico (5 µg e 50 µg) ocorreu simultaneamente à administração da carragenina (200 µg), por meio de uma injeção intraplantar subcutânea de 50 µl. Observou-se que a hiperalgesia inflamatória induzida pela carragenina foi reduzida pelo ácido cístico na dose de 50 µg, enquanto que a menor dose não afetou significativamente o efeito da carragenina.

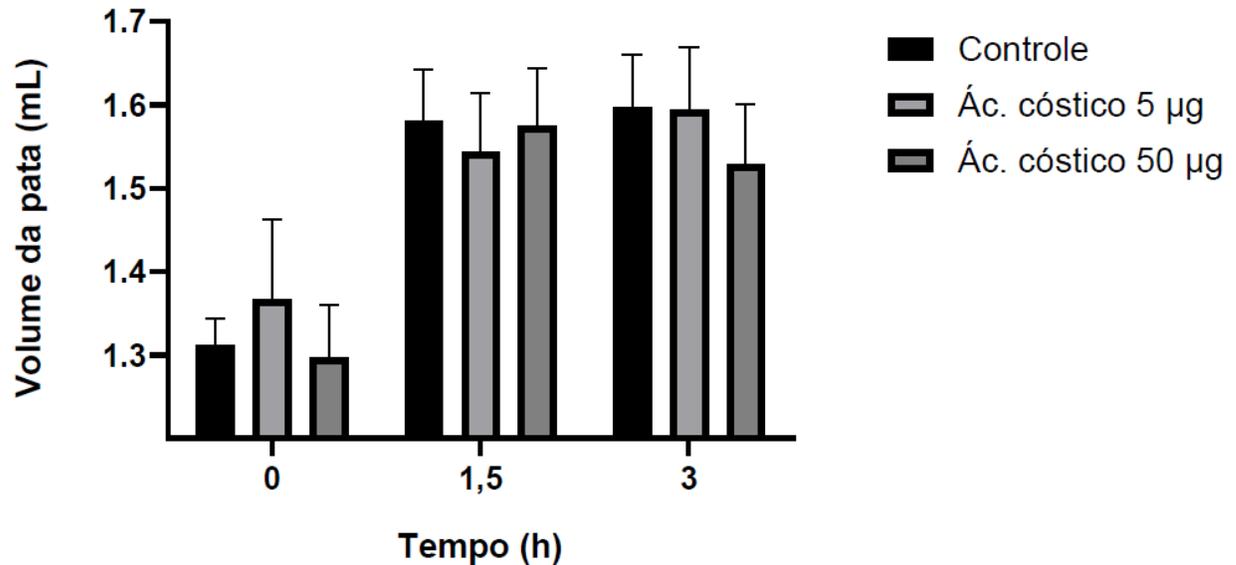


**Figura 5: Teste de hiperalgesia induzida por carragenina.** O limiar de sensibilidade mecânica foi avaliado em três momentos: basal, 1h30 e 3h, após a administração conjunta do ácido cístico (5 µg ou 50 µg) ou veículo (controle) com a carragenina (200 µg), mediante uma injeção intraplantar subcutânea de 50 µL. Os dados estão sendo mostrados como intensidade de hiperalgesia, sendo essa determinada pela diferença entre o valor basal e o valor do limiar após 1,5 ou 3 horas da administração de carragenina. Dados mostrados como média ± EPM (n=6) \* p<0,05 comparado ao grupo controle, ANOVA seguida por teste de Bonferroni.

#### 4.3 Modelo In Vivo de Edema Inflamatório

O pletismômetro foi empregado para avaliar o possível efeito anti-inflamatório do ácido cístico. Este teste foi realizado nos mesmos animais e momentos da avaliação da hiperalgesia inflamatória, sendo a administração conjunta do ácido cístico (5 µg ou 50

$\mu\text{g}$ ) e carragenina (200  $\mu\text{g}$ ) por meio de uma injeção intraplantar subcutânea de 50  $\mu\text{L}$ . O edema foi medido em três momentos: basal, 1h30 e 3h. Não foi observado efeito significativo do ácido cístico sobre o edema inflamatório. Como resultado, a análise foi inconclusiva sobre o impacto do ácido cístico na redução do edema.

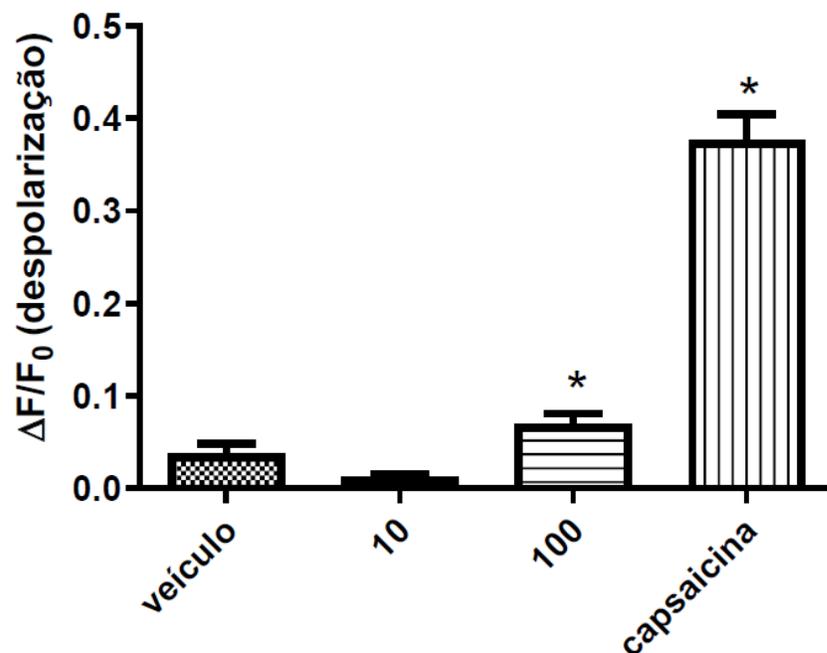


**Figura 6: Modelo In Vivo de Edema Inflamatório.** A avaliação do efeito anti-inflamatório envolveu a medição do edema em três momentos distintos: basal, 1h30 e 3h. A administração de ácido cístico (5  $\mu\text{g}$  ou 50  $\mu\text{g}$ ) e carragenina (200  $\mu\text{g}$ ) ocorreu por meio de uma injeção intraplantar subcutânea de 50  $\mu\text{L}$ . A apresentação dos resultados inclui a média e o EPM (n=6), obtidos por meio do teste ANOVA, seguido pelo teste de Bonferroni.

#### 4.4 Cultura primária de gânglio da raiz dorsal de ratos

O objetivo do experimento foi examinar o impacto do ácido cístico na despolarização de neurônios nociceptivos primários em culturas de gânglio da raiz dorsal de ratos. Os ensaios foram conduzidos utilizando diferentes concentrações de ácido cístico (10  $\mu\text{M}$  ou 100  $\mu\text{M}$ ) e um grupo controle com veículo. Foi capturado uma sequência de imagens ao longo de 5 minutos, administrando o ácido cístico imediatamente após a obtenção das imagens basais. Em seguida, realizou-se um controle positivo, aplicando capsaicina (1  $\mu\text{M}$ ) na mesma placa.

O gráfico abaixo indica que a administração de ácido cístico a 10  $\mu\text{M}$  não provocou alterações no potencial de repouso neuronal, enquanto que a concentração de 100  $\mu\text{M}$  resultou em uma leve variação, causando despolarização. No entanto, não foi possível quantificar a despolarização causada pela capsaicina nas mesmas placas devido a alterações de fluorescência decorrentes de falha no microscópio confocal. No gráfico, incluímos um resultado de outro experimento envolvendo capsaicina para que se possa comparar as despolarizações dos grupos tratados com ácido cístico em comparação com a capsaicina, que serve como controle positivo.



**Figura 7: Efeito do ácido cístico e da capsaicina sobre o potencial de repouso de neurônios sensoriais primários.** A análise do potencial de repouso neuronal foi conduzida por meio das variações na fluorescência emitida pelo indicador DiBAC<sub>4</sub>(3). A representação destaca as alterações na fluorescência provocadas pela administração do veículo (Hanks) e do ácido cístico (10  $\mu\text{M}$  ou 100  $\mu\text{M}$ ) ao longo de um período de 5 minutos. Dados mostrados como média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,0001$ , obtidos por meio do teste ANOVA comparado ao grupo veículo.

## 5. DISCUSSÃO

Neste estudo, investigou-se o potencial do ácido cóstico como analgésico e anti-inflamatório em modelos de dor e hiperalgesia em ratos. Os resultados obtidos apontam para um potencial anti-inflamatório desta molécula.

Para examinar o efeito analgésico, utilizou-se a técnica de indução de nocicepção pela capsaicina nas patas de ratos. A capsaicina confere o sabor picante à pimenta, ativando os neurônios nociceptivos ao aumentar a permeabilidade da membrana aos cátions. O canal TRPV1, sendo não seletivo, permite o fluxo de íons de sódio e cálcio quando ativado pela capsaicina, despolarizando os neurônios nociceptivos. Isso resulta na geração do potencial de ação e, por fim, na sensação calor e dor causada pelo tempero. O TRPV1 desempenha um papel crucial como sensor de dor, e o entendimento de como a capsaicina influencia esse canal é utilizado para avaliar a atividade analgésica direcionados ao TRPV1 (Yang *et al.*, 2017). Os resultados do teste da capsaicina indicam que o ácido cóstico não possui efeito analgésico direto ou anestésico, pois esse extrato não influenciou a nocicepção provocada pela capsaicina, uma vez que não houve redução no número de reações nociceptivas nos grupos de animais examinados.

Para investigar o efeito anti-inflamatório e anti-hiperalgésico foi analisado um modelo de inflamação induzida pela injeção de carragenina na pata dos ratos. Nessa abordagem, foram avaliados o limiar de sensibilidade mecânica por meio do von Frey eletrônico e o volume da pata usando um pletismômetro. A visão tradicional pós-trauma sugere que a migração de leucócitos gera mediadores químicos que causam dor. Isto é, a interação entre dor e sistema imunológico é mútua. Além disso, evidências recentes indicam que as citocinas pró-inflamatórias, presentes em células imunológicas, neuronais e gliais, tanto no sistema nervoso periférico quanto central, também são responsáveis nesse processo. Essas moléculas podem desencadear efeitos de curto e longo prazo, levando a hiperexcitabilidade crônica, alterações nos nociceptores e intensificação dos processos de dor (De Oliveira *et al.*, 2011).

Em uma pesquisa, examinou-se o efeito anti-inflamatório da *Saussurea lappa*, uma erva medicinal, e de seus cinco compostos marcadores, entre eles o ácido cóstico, em células de queratinócitos humanos da linhagem HaCaT (Lim *et al.*, 2015). Estas

células foram estimuladas com fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interferon gama (IFN- $\gamma$ ), sendo tratadas posteriormente com *S. lappa* ou cada um dos cinco compostos marcadores. Tanto o TNF- $\alpha$  quanto o IFN- $\gamma$  são citocinas pró-inflamatórias relacionadas à inflamação. A estimulação com essas citocinas aumentou a produção de quimiocinas, como quimiocina regulada pelo timo e regulada por ativação (TARC), regulada na ativação, células T normais expressas e secretadas (RANTES), quimiocina derivada de macrófagos (MDC) e interleucina-8 (IL-8). Em contrapartida, *S. lappa* e seus compostos marcadores reduziram significativamente a produção dessas quimiocinas nas células tratadas com TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , indicando um efeito anti-inflamatório. Ou seja, as citocinas são substâncias necessárias para a resposta inflamatória. As citocinas pró-inflamatórias produzidas após a lesão desempenham importante papel na dor, agindo através de diferentes mecanismos em vários locais das vias de transmissão da dor (De Oliveira *et al.*, 2011). O TNF- $\alpha$  é uma citocina que parece ter um papel essencial na hiperalgesia induzida por carragenina em ratos (Ribeiro *et al.*, 2000). O efeito inibitório do ácido cóstico na liberação de TNF- $\alpha$  durante o processo inflamatório pode estar relacionado à diminuição da hiperalgesia inflamatória observada no presente trabalho. Este resultado, corrobora, portanto, com aquele publicado por outro grupo (Lim *et al.*, 2015) sugerindo potencial terapêutico como anti-inflamatório para o ácido cóstico.

O pletismômetro foi empregado em três intervalos de tempo distintos, para avaliação de mudanças no volume das patas (edema) tratadas com carragenina. O resultado da análise foi inconclusivo quanto ao impacto do ácido cóstico na redução do edema. Neste teste, especialmente, será necessário repetir os experimentos visto que a variação dos resultados foi maior do que a esperada, indicando erro na mensuração realizada através do pletismômetro. Um possível efeito antiedematogênico indica atividade anti-inflamatória e é importante para avaliar o mecanismo de ação de produtos de origem natural.

Neste trabalho foram realizadas também culturas primárias de GRD de ratos para investigar se o ácido cóstico afeta o potencial de repouso de neurônios nociceptivos primários. Em um estudo anterior de outro grupo (Londero *et al.*, 2020), o ácido cóstico obtido a partir de galhos de *Nectandra barbellata* (Lauraceae) foi testado quanto a sua atividade antiparasitária contra o *Trypanosoma cruzi*. Durante a análise por citometria de

fluxo, observou-se que os parasitas tratados com ácido cístico apresentaram despolarização do potencial elétrico da membrana plasmática. Um efeito direto sobre o potencial de membrana neuronal poderia afetar a nocicepção, causando dor ou analgesia, dependendo do caso. Uma despolarização persistente pode ativar os neurônios, mas também pode dessensibilizar receptores ou manter os canais de sódio dependentes de voltagem inativados. A administração de ácido cístico na menor concentração testada não induziu mudanças no potencial de repouso, enquanto a maior concentração resultou em um discreto aumento de fluorescência, indicando despolarização. No entanto, esta despolarização foi muito reduzida quando comparamos a efeitos de substâncias como a capsaicina, que foi utilizada como controle positivo. Isso ocorreu porque a capsaicina ativa os receptores TRPV1, os quais desempenham um papel na inflamação periférica somática e visceral, na modulação de estímulos nociceptivos para os centros da medula espinhal e do tronco cerebral, além de integrar diferentes estímulos dolorosos (Frias; Merighi, 2016). Vale ressaltar que a capsaicina também é uma molécula descoberta a partir de uma planta e que tem um papel muito importante na pesquisa e na aplicação clínica. Os resultados obtidos em culturas de neurônios não sugerem um efeito do ácido cístico no potencial de repouso e, portanto, esta substância provavelmente não afeta os receptores TRPV1.

Em resumo, os dados apresentados indicam que o ácido cístico possui potencial clínico como anti-hiperalgésico ou anti-inflamatório, não apresentando efeito analgésico ou anestésico.

## 6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa, podemos concluir que:

- A administração intraplantar de ácido cóstico nas doses testadas não teve impacto na nocicepção induzida por capsaicina.
- No modelo de inflamação induzida pela injeção de carragenina na pata dos ratos, o ácido cóstico demonstrou a capacidade de diminuir a hiperalgesia, sugerindo um efeito anti-inflamatório.
- O ácido cóstico provocou uma despolarização neuronal de pequena intensidade em culturas primárias de GRD de ratos na concentração mais elevada testada. Esta despolarização parece não causar efeitos importantes *in vivo*, considerando o efeito do ácido cóstico sobre a nocicepção.

## REFERÊNCIAS

ARMSTRONG, Scott A.; HERR, Michael J. Physiology, nociception. 2019.

BASBAUM, Allan I. et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267-284, 2009.

BINDU, Samik; MAZUMDER, Somnath; BANDYOPADHYAY, Uday. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. **Biochemical pharmacology**, v. 180, p. 114147, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. Aprova Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 22 jun.2006.

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 971, de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Diário Oficial da União 2006; 04 maio.

CROFFORD, Leslie J. Adverse effects of chronic opioid therapy for chronic musculoskeletal pain. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 6, n. 4, p. 191-197, 2010.

CUNHA, T. M. et al. An electronic pressure-meter nociception paw test for mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, p. 401-407, 2004.

DA ROCHA, Luiz Paulo Bezerra et al. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e44101018282-e44101018282, 2021.

DE LA LUSTRA, C. Alarcón; LOPEZ, A.; MOTILVA, V. Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. **Planta medica**, v. 59, n. 06, p. 497-501, 1993.

DE OLIVEIRA, Caio Marcio Barros et al. Citocinas e dor. **Rev. Bras. Anesthesiol**, v. 61, p. 255-265, 2011.

Dutra MG. Plantas medicinais, fitoterápicos e saúde pública: um diagnóstico situacional em Anápolis, Goiás. 2009. Dissertação (Mestrado Multidisciplinar em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente) – Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica. Anápolis.

ETIENNE, Rachele; VIEGAS, Flávia; VIEGAS JR, Claudio. Aspectos fisiopatológicos da inflamação e o planejamento de fármacos: uma visão geral atualizada. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 1, 2021.

FERREIRA, Bruno Antonio et al. Administração do ácido cóstico, um sesquiterpena isolado de *Nectandra barbarellata*, inibiu a inflamação e a angiogênese induzidas por implantes de esponja em camundongos. In: Anais do Simpósio de Integração dos Programas de Pós-graduação em Biologia Celular da UFU, UFMG, UFV e UFSJ. Anais. São João del Rei (MG) UFSJ - Campus Dom Bosco, 2022. Disponível em: <https://www.even3.com.br/anais/viisibc/547937-ADMINISTRACAO-DO-ACIDO-COSTICO-UM-SESQUITERPENO-ISOLADO-DE-NECTANDRA-BARBELLATA-INIBIU-A-INFLAMACAO-E-A-ANGIOGE>. Acesso em: 09/02/2024

FRIAS, Bárbara; MERIGHI, Adalberto. Capsaicin, nociception and pain. **Molecules**, v. 21, n. 6, p. 797, 2016.

GRACE, Peter M. et al. The Neuroimmunology of Chronic Pain: From Rodents to Humans. **Journal of Neuroscience** v. 41, n. 5, p. 855-865, 2021.

HU, Wen-Long et al. Herbal Medicines in Pain Management. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 2022.

JANCSÓ, Gábor; SÁNTHA, Péter. The foundation of sensory pharmacology: Nicholas (Miklos) Jancso and the Szeged contribution. **Temperature**, v. 2, n. 2, p. 152-157, 2015.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Patofisiologia da dor. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n. 1, p. 1-12, 2008.

LATREMOLIERE, Alban; WOOLF, Clifford J. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. **The journal of pain**, v. 10, n. 9, p. 895-926, 2009.

LIM, Hye-Sun et al. Alantolactone from *Saussurea lappa* Exerts Antiinflammatory Effects by Inhibiting Chemokine Production and STAT1 Phosphorylation in TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ -induced in HaCaT cells. **Phytotherapy Research**, v. 29, n. 7, p. 1088-1096, 2015.

LIMA, Alana Silva; DE OLIVEIRA ALVIM, Haline Gerica. Revisão sobre Antiinflamatórios Não-Esteroidais: Ácido Acetilsalicílico. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, v. 1, n. Esp, p. 169-174, 2018.

LONDERO, Vinicius S. et al. Anti-Trypanosoma cruzi activity of costic acid isolated from *Nectandra barbellata* (Lauraceae) is associated with alterations in plasma membrane electric and mitochondrial membrane potentials. **Bioorganic Chemistry**, v. 95, p. 103510, 2020.

LUCAS, Guilherme Nobre Cavalcanti et al. Aspectos fisiopatológicos da nefropatia por anti-inflamatórios não esteroidais. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 41, p. 124-130, 2018.

MAOZ, Michal; KASHMAN, Yoel; NEEMAN, Ishak. Isolation and identification of a new antifungal sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. **Planta Medica**, v. 65, n. 03, p. 281-282, 1999.

MCKUNE, Carolyn M. et al. Nociception and pain. **Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edition of Lumb and Jones**, p. 584-623, 2015.

MIDDLETON, Steven J. et al. Studying human nociceptors: from fundamentals to clinic. **Brain**, v. 144, n. 5, p. 1312-1335, 2021.

MÖLLER, Kristina Ängeby; JOHANSSON, Bo; BERGE, Odd-Geir. Assessing mechanical allodynia in the rat paw with a new electronic algometer. **Journal of neuroscience methods**, v. 84, n. 1-2, p. 41-47, 1998.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of natural products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.

RAJA, S. N. et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain. press. doi**, v. 10, 2020.

RAJPUT, Muhammad Ali et al. Evaluation of antiinflammatory activity of ethanol extract of *Nelumbo nucifera* fruit. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 18, n. 1, p. 56, 2021.

RIBEIRO, Ronaldo A. et al. Analgesic effect of thalidomide on inflammatory pain. **European journal of pharmacology**, v. 391, n. 1-2, p. 97-103, 2000.

ROCHA, Anita Perpétua Carvalho et al. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 57, p. 94-105, 2007.

SCHINELLA, G. R.; TOURNIER, H. A.; PRIETO, J. M. Mordujovich de Buschiazzo P, Ríos JL (2002). **Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. Life Sci**, v. 70, p. 1023-1033.

SILVA, Ledismar José da; MENDANHA, Diego Machado; GOMES, Patrícia Pádua. O uso de opioides no tratamento da dor oncológica em idosos. **BrJP**, v. 3, p. 63-72, 2020.

SOFOU, Kalliopi et al. Use of costic acid, a natural extract from *Dittrichia viscosa*, for the control of *Varroa destructor*, a parasite of the European honey bee. **Beilstein journal of organic chemistry**, v. 13, n. 1, p. 952-959, 2017.

TRACEY, W. Daniel. Nociception. **Current Biology**, v. 27, n. 4, p. R129-R133, 2017.

VALLI, Marilia; RUSSO, Helena M.; BOLZANI, Vanderlan S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 763-778, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review. 1998.

YANG, Fan; ZHENG, Jie. Understand spiciness: mechanism of TRPV1 channel activation by capsaicin. **Protein & cell**, v. 8, n. 3, p. 169-177, 2017.

ZAPPAVIGNA, Silvia et al. Anti-inflammatory drugs as anticancer agents. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 7, p. 2605, 2020.