



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

LUANA DE SOUSA PEIXOTO BARROS

**ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Ayapana triplinervis RICO EM 2,5-DIMETOXI-*p*-CIMENO**

BELÉM - PA

2024

LUANA DE SOUSA PEIXOTO BARROS

**ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Ayapana triplinervis RICO EM 2,5-DIMETOXI-*p*-CIMENO**

Documento de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre, orientado pelo Prof. Dr. Pablo Luis Baia Figueiredo

BELÉM - PA

2024

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

D278a de Sousa Peixoto Barros, Luana.
ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTI-
INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE Ayapana
triplinervis RICO EM 2,5-DIMETOXI-p-CIMENO / Luana de
Sousa Peixoto Barros. — 2024.
66 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Pablo Luis Baia Figueiredo
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas, Belém, 2024.

1. óleo essencial. 2. dor. 3. Ayapana triplinervis. 4.
monoterpeno. I. Título.

CDD 615.1

LUANA DE SOUSA PEIXOTO BARROS

**ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Ayapana triplinervis RICO EM 2,5-DIMETOXI-p-CIMENO¹**

Exame de Defesa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, orientado pelo Prof. Dr. Pablo Luis Baia Figueiredo.

Data de aprovação: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr. Pablo Luis Baia Figueiredo
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - UFPA

Prof. Dr. Enéas de Andrade Fontes Júnior
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – UFPA
(Membro Interno)

Prof. Dra. Joyce Kelly do Rosário da Silva
Programa de Pós-Graduação em Química
(Membro Externo)

¹ Manuscrito publicado em forma de Artigo na revista Journal of Inflammopharmacology. (<https://doi.org/10.1007/s10787-024-01533-9>) Fator de impacto 4.6 (Qualis A2).

Dedico este trabalho a toda minha família, em especial a minha mãe **Léa Barbosa**, ao meu esposo **Wendell Barros** e a todos os meus amigos que estiveram ao meu lado nos melhores e piores momentos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me capacitar pois somente Ele sabe o quanto foi difícil chegar até aqui. Sou grata por ter sido abençoada com pessoas maravilhosas que, de forma direta ou indireta, trilharam esse caminho ao meu lado, ajudando-me a alcançar este importante objetivo.

À Universidade Federal do Pará, por me proporcionar os conhecimentos essenciais ao longo desses dois anos de mestrado, e à toda equipe de docentes cujos ensinamentos foram fundamentais para a minha trajetória acadêmica, minha profunda gratidão a todos.

A CAPES, pelo apoio financeiro e pela concessão da bolsa de Mestrado que foi fundamental para a realização deste trabalho. Contribuiu significativamente para a minha formação pessoal e profissional.

Ao meu orientador Professor Dr. Pablo Luis Baia Figueiredo, por me proporcionar uma boa experiência na área de pesquisa. Sou imensamente grata por acreditar em mim e na realização deste trabalho.

Agradeço a minha Mãe Léa Barbosa por todo apoio, orações e amor incondicional. Saiba, que essa nova conquista é por você e para você. Me sinto realizada e com a sensação de dever se cumprindo. Meu desejo é que, ao longo de toda a minha vida, eu possa sempre te dar orgulho.

Agradeço imensamente ao meu esposo Wendell Barros por seu constante companheirismo, apoio e cuidado. Nos momentos mais difíceis de ansiedade e desafios tanto da Universidade quanto na vida, ele sempre esteve ao meu lado, oferecendo conselhos, encorajamento e confiança de que tudo daria certo.

À minha avó Guiomar, o amor da minha vida e minha segunda mãe, e a todos da minha família, bem como à família do meu esposo — minha sogra, cunhada e sobrinhas — que acreditaram no meu maior sonho. Agradeço profundamente por todo o apoio e amor incondicional.

Ao LaQuiProN (Laboratório de Química de Produtos Naturais) pela grande oportunidade de conhecimento e por todas as amizades que lá foram construídas.

Aos amigos que a pesquisa e a vida me proporcionaram – Ellen Nayara, Maria Juliana, Lucas Viana, Raphael Figueiredo– que sempre estiveram dispostos a me apoiar. Vocês são muito especiais e tornam o trabalho muito mais leve e agradável.

Por fim, expresso minha sincera gratidão a todos que contribuíram direta e indiretamente para mais uma jornada acadêmica e possibilitaram a conclusão da minha pós-graduação. Sem o apoio e a colaboração de cada um de vocês, esta conquista não teria sido possível. Obrigada!

“Quando você conseguir superar problemas graves não se detenha na lembrança dos momentos difíceis, mas na alegria de haver atravessado mais essa prova em sua vida”

Chico Xavier

RESUMO

Ayapana triplinervis (M.Vahl) R.M.King & H.Rob. (Asteraceae), popularmente conhecida como japana, é um subarbusto tropical, aromático, muito utilizado como chá no combate a algumas doenças. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação (3h) e a composição química foi analisada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Para os ensaios in vivo, camundongos *Mus musculus*/Swiss foram utilizados para avaliação toxicológica oral aguda (dose de 2.000 mg/kg); analgésica periférica e central por meio de contorção abdominal (6,25, 12,5, 25, 50 e 100 mg/kg), teste da placa quente (12,5, 25, 50 e 100 mg/kg) e formalina (25, 50 e 100 mg/kg); teste de campo aberto (100 mg/kg); e anti-inflamatória por teste de inchaço da orelha induzido por xileno (6,25, 12,5, 25, 50 e 100 mg/kg). O rendimento do óleo essencial de *A. triplinervis* (OEAt) foi de 4,6%, o monoterpene oxigenado 2,5-dimetoxi-*p*-cimeno foi o composto majoritário deste estudo (63,6%). O OEAt, na dose de 2.000 mg/kg, por via oral, não alterou os padrões de comportamento ou mortalidade dos animais; os níveis séricos dos marcadores de função hepáticos e renais foram semelhantes aos do grupo controle, indicando ausência de toxicidade nesses órgãos. Além disso, o OEAt nas doses de 6,25, 12,5, 25, 50 e 100 mg/kg, reduziu o número de contorções abdominais em 21%, 54%, 91%, 58% e 55%, respectivamente. No teste de placa quente, o OEAt apresentou aumento significativo do tempo de latência no intervalo de 60 minutos nas doses de 25mg/kg ($11,3 \pm 3,3s$) e 100mg/kg ($11,9 \pm 0,9s$). Na primeira fase do teste de formalina, o OEAt diminuiu o tempo de lambertura da pata nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg, com inibição de 22%, 38% e 83%, na segunda fase, as mesmas doses, diminuíram o tempo de lambertura em 24%, 34% e 76%. O OEAt não apresentou alteração significantativa na atividade locomotora espontânea dos animais. As doses de 6,25, 12,5, 25, 50 e 100mg/kg do OEAt, reduziram significativamente o edema da orelha induzido por aplicação tópica de xileno com percentuais de 40%, 39%, 54%, 45%, 45%, respectivamente. O OEAt demonstrou ter baixa toxicidade oral aguda e exibiu significativas ações antinociceptivas e anti-inflamatórias significativas, consistentes com o uso de *A. triplinervis* na medicina tradicional.

Palavra-chave: óleo essencial, dor, *Ayapana triplinervis*, monoterpene

ABSTRACT

Ayapana triplinervis (M.Vahl) R.M.King & H.Rob. (Asteraceae), popularly known as japana, is a tropical, aromatic subshrub widely used as tea to combat some diseases. The essential oil was obtained from the leaves by hydrodistillation (3 h), and the chemical composition was analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. For in vivo assays, *Mus musculus*/Swiss mice were used to evaluate oral acute toxicological (at dose of 2000 mg/kg); peripheral and central analgesic for abdominal contortion (doses of 6.25, 12.5, 25, 50 and 100 mg/kg), hot plate test (12.5, 25, 50, and 100 mg/kg) and formalin (25, 50 and 100 mg/kg); open field test (100 mg/kg); and anti-inflammatory by ear swelling induced by xylene (6.25, 12.5, 25, 50, and 100 mg/kg). The yield of *A. triplinervis* essential oil (AtEO) was 4.6%, and the oxygenated monoterpene 2,5-dimethoxy-p-cymene was the major compound in this study (63.6%). AtEO at a dose of 2,000 mg/kg orally did not change the behavior patterns or mortality of the animals; serum levels of liver and kidney function markers were similar to those in the control group, indicating no liver and kidney toxicity. Moreover, AtEO, at doses of 6.25, 12.5, 25, 50, and 100 mg/kg, reduced abdominal contortions by 21%, 54%, 91%, 58%, and 55%, respectively. In the hot plate test, AtEO showed a significant increase in latency time in the 60-min interval at doses of 25 mg/kg (11.3 ± 3.3 s) and 100 mg/kg (11.9 ± 0.9 s). In the first phase of the formalin test, AtEO decreased paw licking time at doses of 25, 50, and 100 mg/kg, with inhibition of 22%, 38%, and 83%; in the second phase, the same doses, decreased licking time with inhibition of 24%, 34%, and 76%. AtEO did not present a significant change in the spontaneous locomotor activity of the animals. Doses of 6.25, 12.5, 25, 50, and 100 mg/kg significantly reduced ear edema induced by topical application of xylene with percentages of 40%, 39%, 54%, 45%, and 45%, respectively. So, AtEO demonstrated low acute oral toxicity and exhibited significant antinociceptive and anti-inflammatory actions, consistent with the use of *A. triplinervis* in traditional medicine.

Keywords: essential oil, pain, *Ayapana triplinervis*, monoterpenes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Classificação neurofisiológica e temporal da dor.....	19
Figura 2: <i>Ayapana triplinervis</i> (M.Vahl) R.M.King & H.Rob	24
Figura 3: Estrutura química do composto éter dimetil de timohidroquinona.....	25
Figura 4: Modelo de toxicidade aguda oral em camundongos.....	30
Figura 5: Modelo de atividade analgésica periférica.....	31
Figura 6: Modelo do teste de placa quente.....	32
Figura 7: Modelo de nocicepção induzido por formalina	33
Figura 8: Modelo de teste de edema de orelha induzido por xilol.....	34
Figura 9: Estruturas químicas dos compostos identificados no óleo essencial de <i>Ayapana triplinervis</i>	36
Figura 10: Fotomicrografia do córtex renal dos animais do grupo controle (C-1, C2 e C3) e grupo tratamento (T1, T-2, T-3).	39
Figura 11: Fotomicrografia do parênquima hepático dos animais do grupo controle (C-1 e C2) e grupo tratamento (T1, T-2 e T3).	41
Figura 12: Efeitos antinociceptivos do OEAt (6,25, 12,5, 25, 50 e 100 mg/kg), indometacina (5 mg/kg) e veículo no número de contorções em dor visceral causada pelo ácido acético.....	42
Figura 13: Efeito do óleo de <i>Ayapana triplinervis</i> (12.5, 25, 50 e 100 mg/kg), morfina (4 mg/kg) e controle (solução salina a 0,9%) no teste da placa quente em camundongos.....	43
Figura 14: Efeitos antinociceptivos do OEAt, morfina e veículo (1% tween 80 diluído em solução salina estéril, 10 mL/kg) no tempo de lambida da pata traseira direita pelo ensaio de formalina: (Fase 1) Fase neurogênica e (Fase 2) Fase inflamatória	45
Figura 15: Efeito do pré-tratamento com naloxona no efeito antinociceptivo do óleo essencial de <i>Ayapana triplinervis</i> (OEAt) no tempo de lambadura da pata traseira direita pelo ensaio de formalina. A morfina foi usada como controle positivo.	46
Figura 16: Efeito do OEAt na atividade locomotora de camundongos em campo aberto.	47
Figura 17: Efeitos do óleo essencial de <i>Ayapana triplinervis</i> no teste de edema de orelha com xileno.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição química do óleo essencial de <i>A. triplinervis</i>	35
Tabela 2: Peso relativo dos principais órgãos dos camundongos tratados com OEAt e grupo controle.	37
Tabela 3: Efeito da dose aguda de OEAt nos parâmetros bioquímicos de camundongos.....	38

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

AST	Aspartato aminotransferase
ALT	Alanina aminotransferase
ALP	Fosfatase alcalina
OEAt	leo essencial de <i>Ayapana triplinervis</i>
CEUA	Comitê de tica em Uso de Animais
SNC	Sistema Nervoso Central
DL	Dose letal
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massa
i.p.	Via intraperitoneal
v.o.	Via oral
IRC	Indice de Reteno Calculado
IRL	Indice de Reteno da Literatura
OE	leo essencial

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	9
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS	11
1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Nociceção e Analgesia	17
2.2 Inflamação.....	20
2.3 Asteraceae e <i>Ayapana triplinervis</i> (M.Vahl) R.M.King & H.Rob.....	22
3 OBJETIVOS	27
3.1 Geral	27
3.2 Específicos	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 Coleta e Identificação Botânica	28
4.2 Processamento do Material Botânico e Extração dos Óleos Essenciais.....	28
4.3 Análise da Composição Química.....	28
4.4 Animais.....	29
4.5 Doses do Óleo Essencial das Folhas de <i>Ayapana triplinervis</i>	29
4.6 Toxicidade Aguda Oral.....	29
4.7 Análise histológica do Rim e Fígado	30
4.8 Atividades Antinociceptivas.....	31
4.8.1. ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA PERIFÉRICA – TESTE DE CONTORÇÃO ABDOMINAL	31
4.8.2 ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA CENTRAL - TESTE DA PLACA QUENTE	32
4.8.3. TESTE DE NOCICEÇÃO INDUZIDO POR FORMALINA	32
4.9 Avaliação do mecanismo de ação da atividade antinociceptiva: Sistema opióide	33
4.10 Avaliação da atividade locomotora: teste de campo aberto	33
4.11 Teste de inchaço da orelha induzido por xilol	33
4.12 Análise Estatística.....	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 Composição do óleo essencial de <i>Ayapana triplinervis</i>	35
5.2 Efeito da toxicidade oral aguda.....	37

5.3 Efeitos nas contorções induzidas por ácido acético.....	41
5.4 Efeito do óleo essencial de <i>Ayapana triplinervis</i> no teste da placa quente	43
5.5 Efeito do óleo de <i>Ayapana triplinervis</i> na dor aguda induzida por formalina.....	44
5.7 Teste de Campo aberto	47
5.8 Efeito do óleo essencial de <i>Ayapana triplinervis</i> no teste de edema de orelha induzido por xilol	48
6. CONCLUSÕES	51
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
8. COMPROVATE DE PUBLICAÇÃO DO ARTIGO CIENTÍFICO	62
APÊNDICE A.....	63
APÊNDICE B.....	65

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a dor e as doenças inflamatórias têm sido a principal causa de procura de cuidados médicos. Assim, estas condições geram custos significativos para os sistemas de saúde, apresentando um grave problema de saúde pública (Jones et al. 2020). Muitos medicamentos são usados para tratar a dor; dentre eles, destacam-se os Anti-inflamatórios Não Esteroidais (AINEs), mas que geram diversos efeitos adversos, como complicações gastrointestinais, cardiovasculares, hepáticas, renais, cerebrais e pulmonares (Bindu et al. 2020).

Cerca de 60 milhões de pessoas são afetadas pela dor, aproximadamente 10% da população mundial. No Brasil, a dor é um obstáculo à saúde pública, com prevalência em torno de 45% da população do país (Aguilar et al. 2021). Além disso, a dor e as doenças relacionadas são a principal causa de incapacidade a nível nacional e mundial, constituindo um problema de saúde pública de grande relevância (Mills et al. 2019).

Portanto, há interesse em aumentar os estudos sobre a atividade antinociceptiva e anti-inflamatória dos OEs devido à sua capacidade de atuar na algésias e nos processos inflamatórios, constituindo uma estratégia terapêutica mais seletiva, segura e com menos efeitos adversos em comparação aos AINEs (Boukhatem et al. 2020; Pajares et al. 2020). Além desses aspectos, os óleos essenciais têm ganhado destaque devido às suas atividades antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória, o que pode ser atribuído a diversos compostos químicos, principalmente monoterpenos e sesquiterpenos, produzidos pelo metabolismo secundário de plantas aromáticas, atuando nas diferentes etapas da cascata de produção e liberação de mediadores pró-inflamatórios, ou ainda em receptores de mediadores plasmáticos ou neurotransmissores, atuando pelas vias clássicas de modulação descendente da nocicepção (Ribeiro et al. 2018).

Dessa forma, os mecanismos de ação dos óleos essenciais baseiam-se na sua natureza lipofílica, baixo peso molecular e composição a partir de constituintes não ionizados, permitindo-lhes atravessar as membranas celulares (Ribeiro et al. 2018; Souza et al. 2021).

Ayapana triplinervis (M.Vahl) RMKing & H.Rob. é um subarbusto tropical, conhecido popularmente como erva-de-cobra, japana, agapana, ayapana, erva-santa, entre outros nomes (Nery et al. 2011; Grossi e Barreto 2024). Esta espécie é representada por duas variações: o morfotipo A, popularmente chamado de “japana-branca”, e morfotipo B, que é conhecido como “japana-roxa” (Grossi e Barreto 2024). Esta espécie é considerada aromática e rica em óleo essencial, com forte cheiro de cumarina, muito utilizada no tratamento de gripes e resfriados na

forma de chás, além de possuir capacidade hemostática para ser utilizada na regulação da menstruação e no combate a sangramentos (Gauvin -Bialecki e Marodon 2008).

A. triplinervis foi recentemente listada como planta medicinal na Farmacopeia Francesa. Além disso, é tradicionalmente utilizado pela população local das Ilhas Mascarenhas devido às suas propriedades sedativas, estimulantes e anti-inflamatórias (Samoisy e Mahomodally 2015, 2016). Considerando que poucos relatos na literatura que avaliam o óleo essencial de *Ayapana triplinervis* em modelos *Mus musculus* (Swiss), frente a dor e inflamação, este estudo tem como objetivo avaliar a composição química, atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial desta espécie.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Nocicepção e Analgesia

A dor é uma experiência emocional e angustiante que está profundamente conectada a danos teciduais, alertando os mecanismos de defesa do corpo para agir e prevenir possíveis lesões adicionais (Chindo et al., 2024). A percepção da dor constitui um sinal de alerta que ajuda a proteger o organismo, incitando reações que estimulam comportamentos específicos, visando evitar ou reduzir os estímulos que estejam causando-a, resultando no encerramento ou limitação dos danos consequentes (Finnerup, Kuner e Jensen, 2021).

Na maioria dos casos, a resposta dolorosa pode resultar da ativação de neurônios aferentes primários específicos, denominados nociceptores ou do sistema nervoso central (SNC). A dor motivada por uma estimulação dos nociceptores localizados na pele, vísceras e outros órgãos é referida dor nociceptiva, ao passo que a dor resultante de uma disfunção ou lesão do sistema nervoso central ou periférico é declarada dor neuropática, também dita dor central quando a lesão se concentra no SNC (Finnerup, Kuner e Jensen, 2021; Lee e Neumeister, 2020).

Nesse sentido, a dor pode ser considerada como uma questão de saúde pública pois tem possibilidade de causar sintomas físicos, alterações de humor, comportamento e transtornos psicológicos, dependendo do grau, intensidade e duração daquela dor e associação ou não com outros fatores biológicos e sociais, levando o indivíduo a condições debilitantes que interferem em sua qualidade de vida (Cardoso, 2012). Dessa forma, a dor surge quando um estímulo nocivo ou trauma afeta um tecido mole, configurando um processo adaptativo para auxiliar na cicatrização e reparo tecidual, sendo que a hipersensibilidade na área afetada (hiperalgesia primária) e nas áreas adjacentes (hiperalgesia secundária) contribuem para facilitar tal mecanismo, ao passo que causam certas limitações no dia a dia do indivíduo (Klaumann, 2008; Ledowski, 2019).

A nocicepção está intimamente ligada às vias envolvidas na captação de estímulos térmicos, mecânicos ou químicos intensos seguindo determinados caminhos de sinalização da dor podendo dividir-se em via espinotalâmica relacionada a dor corporal, e via trigeminal ligada a dor na face. Além disso, esses neurônios detêm terminações centrais (tronco cerebral e medula espinhal) e no sistema somatossensorial periférico, sendo classificados como pseudo-unipolares, detectando estímulos na periferia e transmitindo às estruturas centrais (Mccarberg e Peppin, 2019).

Além disso, a nocicepção é o processo neural de codificação e processamento de estímulos nocivos, que inclui as etapas de transdução, transmissão e modulação, originadas pela

ativação de nociceptores em tecidos cutâneos ou profundos devido a lesão tecidual (Finnerup, Kuner e Jensen, 2021). A lesão tecidual gera uma resposta inflamatória inespecífica com efeito protetor as lesões de tecidos vascularizados locais, que podem ser desencadeadas por diversos estímulos químicos, físicos ou biológicos (Zhou et al., 2007; Chen et al., 2018), mas também podem causar danos tissulares levando à perda funcional da superfície lesionada, quando inadequadamente controlada (Wu, Zhang e Li, 2019; Etienne et al., 2021).

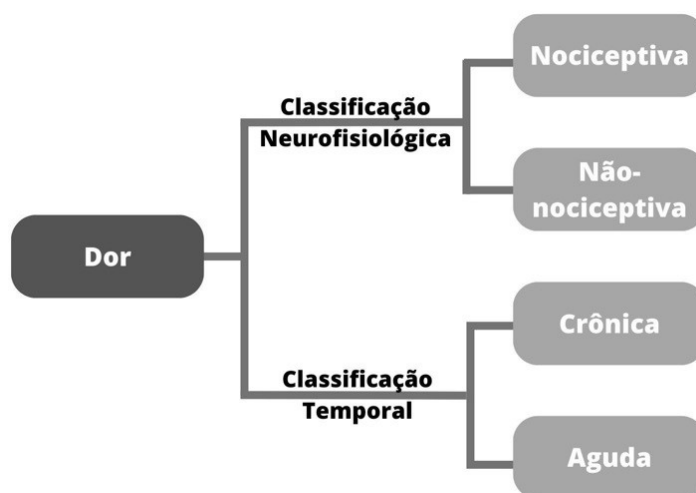
A primeira etapa designada transdução consiste na transformação de estímulos ambientais físicos ou químicos em potenciais de ação através dos nociceptores. Esses potenciais elétricos são conduzidos pela via aferente primária, a qual é composta por dois principais tipos de inervação: fibras A-delta mielinizadas e fibras C não mielinizadas, responsáveis respectivamente pela primeira fase da dor: determinada pela velocidade e intensidade da transmissão, e segunda fase de dor: identificada como difusa e persistente (De Moraes et al., 2021; Lee e Neumeister, 2020).

Seguindo a etapa de condução, ocorre a transmissão dos potenciais de ação do axônio das fibras primárias aferentes até os sítios de sinapse na medula espinhal. Esse processo desencadeia a liberação de neurotransmissores, incluindo glutamato e substância P, que ativam neurônios situados na medula espinhal (Finnerup, Kuner e Jensen, 2021; Lee e Neumeister, 2020). Dessa forma, a percepção da informação elétrica gerada como dor, resulta da integração dos estímulos nocivos com áreas corticais e do sistema límbico. Essa resposta, pode ser modulada por estímulos periféricos não nociceptivos do corno dorsal da medula. A percepção desse estímulo é mediada por interneurônios inibitórios GABAérgicos e glicinérgicos locais, assim como projeções descendentes bulboespinhais (Finnerup, Kuner e Jensen, 2021; Khan; Khan; Kim, 2019).

Dessa forma, a investigação científica da nocicepção de origem inflamatória pode ser realizada por avaliação de ações de drogas sobre comportamentos indicativos de dor ou nocicepção manifesta, em que o estímulo nocivo causa, por si só, a ativação das vias nociceptivas, induzindo o comportamento compatível com a dor como nos testes de formalina ou de contorções abdominais (De Lima et al., 2023; Conegundes et al., 2021). Em animais, a avaliação primária da dor aguda é baseada em sinais comportamentais característicos e em parâmetros fisiológicos. As concentrações plasmáticas de biomarcadores como cortisol, beta-endorfinas e proteínas de fase aguda são utilizadas enquanto indicadores de dor, podendo ser correlacionadas com os indicadores comportamentais, os quais incluem a redução das caminhadas e do apetite, letargia, vocalização, agressão, postura ou expressão facial alterada, inquietação ou o ato de se esconder (Ferrari, 2020).

Portanto, a compreensão da diferença entre dor e nocicepção é importante para entender os mecanismos que envolvem esses conceitos e encontrar as formas mais eficazes de manejo dessas condições. Para isso, foi necessário entender os fatores envolvidos no processo da dor e classificar quanto aos mecanismos fisiopatológicos e tempo de duração (Figura 1). Assim, a classificação quanto aos mecanismos neurofisiológicos é dividida em dor nociceptiva e não-nociceptiva, enquanto a classificação levando em consideração o tempo de duração, divide-a em dor aguda e dor crônica (Cardoso, 2012).

Figura 1: Classificação neurofisiológica e temporal da dor.



A dor nociceptiva é caracterizada pela preservação das vias do sistema nervoso e percepção de mudanças na temperatura, de vibrações, distensão ou substâncias liberadas na ocorrência de dano tecidual, por nociceptores constituídos de terminações nervosas livres que levam a informação ao sistema nervoso central através de fibras A δ e fibras C. Ainda, essa classificação se subdivide em somática (quando a origem da dor vem de origem dérmica, muscular ou óssea, indo de queimaduras leves, pequenas feridas ou cortes a fraturas ósseas ou rupturas de ligamentos) e visceral (quando a dor se origina de órgãos internos e pode revelar infecções, processos inflamatórios e de mudança de motilidade em certos órgãos) (Ledowski, 2019).

Já a dor não-nociceptiva não tem relação com as terminações nervosas específicas, mas sim com as disfunções geradas no sistema nervoso a partir de danos em células nervosas e pode ser dividida em neuropática e simpática (Stenz et al., 2022).

Além dos mecanismos fisiopatológicos, a dor pode ser classificada de acordo com o seu tempo de duração, sendo importante para a avaliação clínica a distinção da dor aguda (de curta duração) e dor crônica (de longa duração) (Cardoso, 2012).

A dor aguda possui uma duração curta e decorre de uma lesão ou processo inflamatório pouco intenso relacionado a processos adaptativos de reparo tecidual e, normalmente, em camadas superficiais, o que a caracteriza como autolimitada e de fácil diagnóstico, pois a causa é claramente identificável. Essa característica auxilia o organismo em processos de sobrevivência, como sistema de alerta e proteção, ocorrendo alterações endócrinas e comportamentais no organismo (Sallum et al., 2012).

A dor crônica possui duração mais longa (podendo variar entre meses a anos) e pode ocorrer mesmo após o processo de cura da lesão, gerando diversas limitações para o indivíduo, além de ter difícil acesso terapêutico, pois a causa pode ser multifatorial e envolver aspectos biológicos, psicológicos ou sociais, necessitando de uma abordagem multidisciplinar para o correto manejo clínico do paciente (Phelps et al., 2021). Ainda, essa classificação de dor constitui um sério agravo à saúde pública pois, a partir dela, é possível a susceptibilidade a infecções, limitações físicas e psicológicas, queda na qualidade de vida e gastos com tratamentos diversos (Sallum et al., 2012; Phelps et al., 2021).

Estudos demonstram que os OEs atuam no sistema sensorial e aumentam a resposta parassimpática, resultando no relaxamento (Paixão e Carvalho, 2021). Os efeitos analgésicos dos óleos modulam os neurotransmissores de serotonina, dopamina e norepinefrina no sistema nervoso. A exemplo, o OE de *Copaifera langsdorffii* Desf., por via oral, apresentou efeito antinociceptivo (periférico e central), sem efeitos tóxicos. Em relação as doenças reumáticas (fibromialgia, osteoartrite e artrite reumatoide), o tratamento tópico associado aos OEs elencaram as possíveis vias de ação, como o aumento da dilatação, fluxo de vasos sanguíneos superficiais e elevação dos níveis de serotonina. Mecanismos importantes a serem descobertos, visto que, estão relacionados a dor local e difusa (Paixão e Carvalho, 2021).

2.2 Inflamação

A inflamação é uma resposta protetora dos tecidos vascularizados a infecções e lesões tissulares, que podem ser desencadeadas por microrganismos patogênicos, estímulos químicos, físicos ou biológicos e presença de componentes antigênicos (corpos estranhos) e necrose tecidual (Turnes, 2019). Essa reação tem por objetivo a delimitação da área lesionada e consequente reparação e regeneração do local afetado, a fim de restaurar a homeostase (Sandoval et al., 2017).

O processo inflamatório está associado à liberação de citocinas e quimiocinas (TNF- α , lipoxinas, cininas, prostaglandinas, leucotrienos), tal qual proteínas de sinalização celular no ambiente tecidual e células migratórias com a função de bloquear, inativar ou eliminar o agente

inflamatório. Essa resposta protetora é caracterizada pela produção de fluidos, substâncias químicas e células lesadas, alterações vasculares, recrutamento e ativação de leucócitos para induzir o reparo celular por meio de modificações teciduais e funcionais que determinam os cinco sinais principais da inflamação: dor, calor, rubor, vermelhidão, inchaço (edema), dor e perda de função (Etienne et al., 2021).

A concentração de sangue e aumento da temperatura pelo maior fluxo sanguíneo causam calor e vermelhidão, que aumentam a circulação sanguínea na área inflamada (hiperemia). Já o inchaço é causado pelo aumento da permeabilidade vascular, que permite o extravasamento vascular de líquidos, constituindo o edema. Assim, a dor resulta tanto da compressão de terminações nervosas pelo edema, quanto por substâncias químicas liberadas no organismo em resposta à lesão tissular. Por fim, pode haver perda de função, total ou parcial, decorrente do edema ou dor, em articulações, tecidos ou membros relacionados ao movimento, limitando ou impedindo a rotina do indivíduo e dificultando atividades de maneira geral (Wu, Zhang e Li, 2019; Etienne et al., 2021).

Do ponto de vista temporal, a inflamação é classificada como aguda ou crônica. Na fase aguda, há predomínio dos componentes da imunidade inata e com eventos inter-relacionados, destacando-se o aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade vascular na região lesionada, além da liberação de mediadores inflamatórios e migração de leucócitos por quimiotaxia (Freitas et al., 2019). Os mediadores envolvidos no processo agudo são as aminas vasoativas e metabólitos do ácido araquidônico, fator de ativação plaquetária (FAP), quimiocinas, fator de necrose tumoral (TNF) e interleucinas (IL-1 β , IL-6 e IL-18).

Quando o estímulo inflamatório é prolongado, devido a não eliminação do agente agressor, a inflamação evolui para a fase crônica. Essa fase é caracterizada pela infiltração de células mononucleares como macrófagos e linfócitos (resposta imune adaptativa), sendo que linfócitos B e T facilitam a sinalização entre diversas células imunes e a disfunção das citocinas inflamatórias. Observa-se também nessa fase, destruição tecidual e presença de fibrose (Gatto et al., 2023). Em contraste, no processo crônico, os macrófagos possuem importante função, estando dispersos em vários tecidos conjuntivos, além do fígado, baço, linfonodos e no SNC (Turnes, 2019).

A inflamação crônica está relacionada a diversas doenças, como as cardiovasculares, diabetes, artrite, Alzheimer, pulmonares e autoimunes. Ademais, também está envolvida no processo de tumorigênese, desde a transformação celular até o início da metástase (Gatto et al., 2023; Singh et al., 2019).

O processo inflamatório se inicia quando ocorre a ativação de enzimas que interagem com os fosfolípidios de membrana. A principal enzima envolvida nesse processo é a fosfolipase A2 (PLA2), a qual atua degradando fosfolípidios e liberando o ácido araquidônico (AA) para a formação de eicosanoides necessários (Leite; Costa, 2022). O ácido araquidônico liberado age como substratos para a via das ciclooxigenases (COX), atuando na biossíntese de prostaglandinas, tromboxanos, e via das lipoxigenases (LOX) que geram leucotrienos e lipoxinas (Leite; Costa, 2022; Rosa, 2017).

Esses eicosanoides derivados do AA possuem as seguintes funções na resposta inflamatória: Prostaglandinas: aumentam a permeabilidade capilar, vasodilatação e estímulo à quimiotaxia (Rosa, 2017). Prostaciclina: Possuem ação vasodilatadora e agem na inibição da agregação plaquetária (Rosa, 2017). Tromboxanos: Facilitam a agregação plaquetária, possuem ação vasoconstritora na circulação sistêmica e vasodilatadora na circulação pulmonar (Leite; Costa, 2022). Leucotrienos: Vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular (Etienne et al., 2021). Lipoxinas: redução da síntese de citocinas pró inflamatórias, controle do influxo de leucócitos para o sítio de inflamação e estímulo a liberação de macrófagos para a remoção de células mortas (Freitas et al., 2019).

Para o tratamento da dor e inflamação, foram desenvolvidas terapias farmacológicas como a administração de Anti-Inflamatórios Não Esteroidais (AINEs), os quais possuem atividades antipiréticas, analgésicas e anti-inflamatórias. Esses medicamentos atuam inibindo as ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) e, conseqüentemente, reduzem a síntese de prostaglandinas. No entanto, o uso desses medicamentos está associado a vários efeitos adversos tais como: danos gastrointestinais e hepático, cardiovasculares e pulmonares (Watanabe et al., 2019).

2.3 Asteraceae e *Ayapana triplinervis* (M.Vahl) R.M.King & H.Rob

Asteraceae apresenta cerca de 25.000 espécies catalogadas em 4.141 gêneros, sendo a maior família de angiospermas, caracterizada por ser atribuída pela sua capacidade de dispersão devido à presença de sementes com pápus plumosos, apêndices, estruturas de aderência e metabólitos secundários (Cancelli, Evaldt e Bauermann, 2007). A família produtora de óleos essenciais conta com 2.215 espécies registradas em 328 gêneros. É nativa, mas não endêmica, e está amplamente distribuída por todas as regiões do Brasil. Sua composição inclui ervas perenes, subarbustos, arbustos e árvores trepadeiras. Graças à sua fácil adaptação ao ambiente, pode ser encontrada em diversos habitats, com preferência por regiões tropicais, subtropicais e temperadas (Cancelli et al, 2010).

Além disso, nas plantas da família Asteraceae, a inflorescência conhecida popularmente como capítulo, apresenta uma simetria radical e as pequenas flores que compõe o capítulo podem ter diferente tipos de simetria, além das flores, espécies desta família possuem um cálice persistente denominado pappus, que é altamente diversificado, incluindo tipos capilar, plumoso, escamoso e espinhoso (Zhang et al, 2024). Devido à eficácia de seus mecanismos de dispersão, diversas espécies de Asteraceae são capazes de percorrer grandes distâncias, o que favorece sua ampla distribuição pelos diversos continentes ao redor do mundo. Entretanto, muitas espécies da família possuem regiões geográficas relativamente restritas (Hussain, 2024).

A família é considerada uma das mais importantes fontes de espécies vegetais de interesses terapêuticos, cosméticos e aromáticos (Ribeiro, Silva e Castro, 2010). Desde os tempos antigos, algumas ervas desta família foram cultivadas para serem consumidas tanto como alimento quanto na medicina (Mohanta et al., 2023).

Há relatos na literatura do seu uso medicinal como anti-inflamatório, adstringente, colestérico, anti-hemorrágico, antimicrobiano, diurético, analgésico e antiespasmódico (Iskan et al., 2006; Abad e Bermejo, 2007; Benedek et al., 2007; Jeon et al., 2008). Portanto, compostos bioativos produzidos por espécies de Asteraceae, e seu uso recorrente na medicina tradicional, impulsionaram o desenvolvimento de estudos aplicados na comprovação de suas bioatividades (Bessada, Barreira e Oliveira, 2015).

O gênero *Ayapana* está amplamente distribuído nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do Brasil, contando com quatro espécies nativas e não endêmicas (Grossi e Barreto, 2023). Pertencente ao grupo principal das Angiospermas (plantas com flores), o gênero inclui as espécies *A. triplinervis*, *A. amygdalina*, *A. lanceolata* e *A. stenolepis*. Todas ocorrem na Floresta Amazônica, exceto *A. stenolepis*. (Grossi e Barreto, 2023).

Ayapana triplinervis (M.Vahl) R.M.King & H.Rob é utilizada na medicina popular do Brasil e em diversos países da América Latina, Caribe e Ásia (Moraes et al, 2022), suas sinonímias são: *Ayapana officinalis* Spach, *Eupatorium ayapana* Vent, *Eupatorium triplinerve* Blume e *Eupatorium triplinerve* Vahl (Bhattacharyya et al, 2023). Em estudos etnobotânicos, há relatos sobre o uso da espécie em outros países contra febre e no tratamento contra malária, além disso, o perfil químico de *A. triplinervis*, é composto por terpenos e derivados aromáticos (Maia, 2001).

A. triplinervis é uma planta arbustiva e perene, com hastes cilíndricas, às vezes hexagonais, que podem atingir até 1m de altura. Suas folhas são aromáticas, suaves, simples e opostas, medem de 5,5 a 10,5 cm de comprimento e 0,8 a 1,7 cm de largura (Bialecki e

Marodon, 2008). A espécie forma grandes touceiras de caules não ramificados que crescem durante todo o ano, mas principalmente na estação chuvosa (Grossi e Barreto, 2023).

Espécimes de *A. triplinervis* produzem um amplo espectro de compostos bioativos, utilizados pela planta para defesa de estressores bióticos e abióticos. Esses compostos também têm diversas aplicações humanas, como em medicamentos, controle de insetos, aromatizantes de alimentos e bebidas, fragrâncias, produtos de higiene, entre outros (Rodrigues et al. 2022).

Na medicina tradicional, as folhas de *A. triplinervis* são amplamente usadas na forma de como chás para indigestão e dores de estômago, além de serem indicadas para promover a cicatrização de feridas e regeneração de tecidos (Fernezelian, 2023). No Brasil, suas folhas contêm herniarina, um composto semelhante ao metóxilo da umbeliferona, utilizado no tratamento de problemas gástricos e úlcera gástrica (Corrêa, 1984; Maity et al. 2021).

Figura 2: *Ayapana triplinervis* (M.Vahl) R.M.King & H.Rob



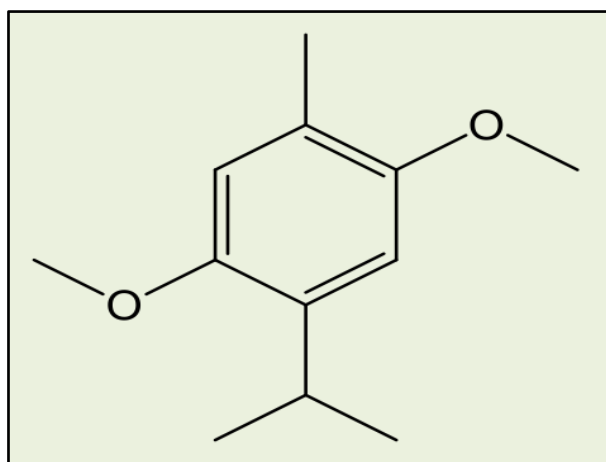
Fonte: O autor (2024).

Do ponto de vista etnofarmacológico, a espécie também apresenta potencial antioxidante significativo, incluindo atividade antioxidante e capacidade de reduzir a migração de neutrófilos em modelos experimentais de Zebrafish, reforçando seu valor terapêutico

(Checkouri et al. 2020; Fernezelian et al, 2023). Estudos também destacam suas atividades antimicrobianas, antioxidantes e fungicidas de *A. triplinervis* (Lopes et al, 2015; Melo et al, 2013). Tradicionalmente, *A. triplinervis* é utilizada como estimulante expectorante, diurético, antiperiódico, tônico e cardíaco. Além disso, é empregada no tratamento de feridas, picadas de cobra e hemorragia, reforçando sua relevância na medicina popular (Bhattacharyya et al, 2023).

O óleo essencial da espécie, é uma fonte natural de 2,5-dimetóxi-*p*-cimeno (também conhecido como éter dimetílico de timohidroquinona), composto que se destaca por sua atividade antimicrobiana (Bialecki e Marodon, 2008).

Figura 3: Estrutura química do composto éter dimetil de timohidroquinona.



Fonte: Adams, 2007.

Os óleos essenciais, amplamente utilizados em diversas formas de administração, possuem propriedades cientificamente reconhecidas. Eles podem ser administrados por via oral, em comprimidos gelatinosos ou diluídos, por inalação, na forma de infusão ambiental, ou topicamente, como óleos de massagem ou pomadas (Farrar e Farrar, 2020; Rodrigues et al., 2022). No entanto, esses compostos são vulneráveis à volatilidade e à oxidação quando expostos ao oxigênio e à luz, o que pode comprometer a atividade biológica de seus constituintes (Guimarães et al., 2008).

Alguns estudos relataram as propriedades químicas e biológicas de *Ayapana triplinervis*. Estudos como o de Gauvin-Bialecki e Morondon (2008), identificaram três amostras de *Ayapana triplinervis* coletados em dois locais distantes na Ilha da Reunião: (Norte da ilha; amostras 1 e 2, Sul da ilha; amostra 3), em diferentes fases de crescimento (floração; amostras 1 e 3, vegetativo; amostra 2) foram investigados quanto à composição do óleo essencial das folhas. A análise por CG-FID e CG-MS permitiu identificar 39 constituintes que representam 97,1–98,0% dos óleos, sendo que as três amostras de OEs obtidas por

hidrodestilação, apresentaram alto percentual do composto aromático éter dimetílico de timohidroquinona (89,9–92,8%). Todos os outros componentes minoritários permaneceram mais ou menos inalterados, tanto qualitativa como quantitativamente, no que diz respeito ao estágio de crescimento.

Estudos demonstraram o potencial inseticida das nanoemulsões do óleo essencial de *A. triplinervis* mostrando eficácia contra *Aedes aegypti*, com baixa toxicidade dérmica, indicando segurança para uso tópico. Esses resultados reforçam a versatilidade dos OEs de *A. triplinervis*, tanto no controle de pragas, quanto em aplicações terapêuticas, especialmente em formulações tópicas (Rodrigues et al. 2022).

O docking molecular mostrou que os compostos minoritários presentes no OE do morfotipo A têm uma afinidade de ligação significativa para inibir a acetilcolinesterase e os receptores do hormônio juvenil. Adultos de *Aedes aegypti* foram suscetíveis a *A. triplinervis* na dose de $150\mu\text{g.mL}^{-1}$ em um tempo diagnóstico de 15min para nanoemulsão de OE de morfotipo A e 45min para nanoemulsão de OE de morfotipo B. A avaliação da toxicidade em camundongos albinos suíços indicou que as nanoemulsões apresentaram baixa toxicidade dérmica aguda e apresentaram LD50 superior a 2000 mg. Kg^{-1} . Dessa forma, foi possível concluir que as nanoemulsões têm potencial para serem utilizadas no controle químico de *A. aegypti* (Rodrigues et al., 2022).

Assim, a aplicação de óleos essenciais em modelos animais de experimentação antinociceptiva e anti-inflamatória se justifica pela presença de elevada concentração de compostos bioativos, como terpenos e flavonoides. Esses constituintes são responsáveis por efeitos farmacológicos mais potentes, com maior facilidade de penetração em tecidos devido à sua natureza lipofílica (Ribeiro et al. 2018; Souza et al. 2021). Além disso, os OEs apresentam maior estabilidade química e têm mecanismos de ação específicos sobre vias inflamatórias, como a inibição de enzimas pró-inflamatórias e modulação de citocinas (De Lima et al., 2023). Essa eficácia superior, junto à melhor biodisponibilidade em soluções, torna os óleos essenciais uma escolha preferível para esses estudos.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial de *Ayapana triplinervis* (OEAt).

3.2 Específicos

- Determinar por meio de parâmetros bioquímicos a toxicidade oral aguda do OEAt;
- Avaliar os efeitos do OEAt nos tecidos do fígado e dos rins de camundongos tratados, identificando possíveis alterações histopatológicas.
- Avaliar a atividade antinociceptiva central e periférica do OEAt em camundongos;
- Investigar o mecanismo de ação antinociceptiva relacionado ao sistema opioide;
- Avaliar a atividade locomotora por meio do teste de campo aberto;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória do OEAt em orelha de camundongos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta e Identificação Botânica

As folhas de um espécime de *A. triplinervis* foram coletadas no município de Tracuateua, estado do Pará, Brasil (1°4'20"S/46°54'8"W), transportados em sacos plásticos arejados e armazenados em local com sombra e ventilação. A identificação botânica foi realizada por comparação com um espécime autêntico de *A. triplinervis*, e uma exsicata (MG-246368) foi incorporada ao Herbário "João Murça Pires" do Museu Paraense Emílio Goeldi, município de Belém, Pará, Brasil pelo botânico Carlos Alberto Santos da Silva. O Cadastro de acesso ao patrimônio genético no SISGEN foi realizado sob o número ADFC9F5.

4.2 Processamento do Material Botânico e Extração dos Óleos Essenciais

A preparação do material botânico e a extração dos óleos essenciais foi realizada no Laboratório de Química de Produtos Naturais na Universidade do Estado do Pará - Centro de Ciências Naturais e Tecnologia UEPA-CCNT). As folhas foram separadas e armazenadas em bandejas para secagem em temperatura ambiente, em sala climatizada por quatro dias.

Após a secagem, as folhas foram moídas com o auxílio de um triturador. Os óleos essenciais (OEs) foram extraídos por hidrodestilação com extrator do tipo Clevenger modificado por 3h. Em seguida, os OEs foram centrifugados por 5 min, desidratados com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e novamente centrifugados sob as mesmas condições. Os OEs foram armazenados em ampolas de vidro âmbar e conservados sob refrigeração.

A umidade residual do material foi obtida por secagem em estufa a 110°C até o peso constante. Os rendimentos foram calculados levando em consideração a amostra livre de umidade (B.L.U).

4.3 Análise da Composição Química

A composição química do óleo essencial foi analisada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, conforme relatado anteriormente (Barros et al. 2022). A análise foi realizada em sistema Shimadzu QP 2010 ultra equipado com Auto-injetor AOC-20i, e coluna capilar de sílica Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm de espessura do filme). As condições de operação foram cuidadosamente controladas: programa de temperatura (60-240 °C a 3 °C/min), temperatura do injetor (250 °C), gás de arraste hélio (vazão de 1 mL/min), tipo split (1:20) injeção de solução de óleo essencial a 1% em hexano), detector de massa (ionização de elétrons a 70 eV), temperatura da fonte de íons (200 °C). Os componentes individuais foram identificados com um alto grau de certeza comparando seus padrões de fragmentação espectral

de massa e seus índices de retenção (calculados em relação a uma série homóloga de n -alcanos) com aqueles fornecidos nas bases de dados (Adams 2007; Mondello 2011).

4.4 Animais

O projeto de pesquisa foi submetido à aprovação do Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Estado do Pará (UEPA). Foram utilizados, nesta pesquisa, 194 camundongos, heterogênicos, *Mus musculus* da linhagem Swiss, machos, adultos (aproximadamente 30 dias de idade), pesando entre 30 e 40 g, provenientes do Biotério do Instituto Evandro Chagas (IEC).

Os animais foram transferidos e mantidos no Biotério da UEPA/CCBS, onde foram colocados em gaiolas de acrílico apropriadas com fundo contendo maravalha, que lhes serviu de cama, mantidos em ambiente de temperatura entre 22 e 25°C, recebendo água e ração *ad libitum* durante o período do experimento e ciclo de luz noite/dia de 12 horas. A limpeza e a troca das maravalha seguiu o protocolo do biotério da UEPA.

4.5 Doses do Óleo Essencial das Folhas de *Ayapana triplinervis*

As doses selecionadas do Óleo Essencial de *Ayapana triplinervis* (OEAt) foram baseadas no trabalho de Costa et al. (2022). Assim, foram adotadas doses de 25, 50 e 100 mg/kg por via oral. O OEAt foi solubilizado com Tween 80 para assegurar a homogeneidade. A densidade do OEAt, foi de 0,0889g/mL, sendo esta informação fundamental para o preparo das soluções. Em alguns experimentos foram usadas doses adicionais para determinar a dependência da dose do OEAt.

4.6 Toxicidade Aguda Oral

Os animais (n = 8 por grupo) foram tratados oralmente com uma única dose do veículo (1% Tween 80 diluído em solução salina estéril, v/v), ou só óleo essencial de *A. triplinervis* na dose de 2000 mg/kg, como indicado pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2002).

Os parâmetros de toxicidade avaliados foram: atenção, alerta, atividade motora espontânea, locomoção, falta de apetite, apatia, resposta ao toque, secreção nasal, piloereção, estereótipo, agressividade, ataxia, suor, micção, diarreia, convulsão e morte foram observados após 30, 60, 120 e 240 minutos e uma vez ao dia, durante 14 dias (FDA 2003).

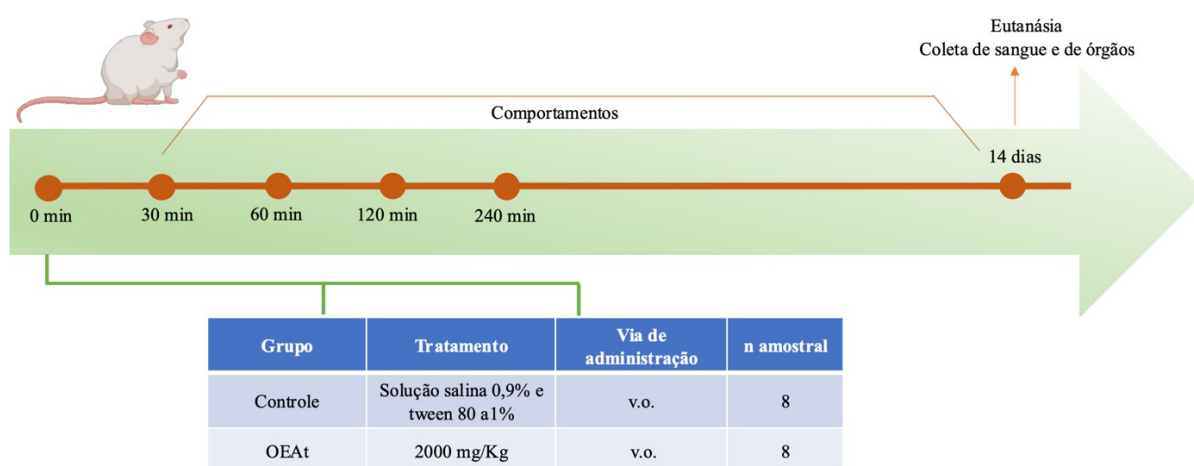
No 15º dia todos os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical. O sangue foi coletado diretamente do coração, e os rins, baço, fígado e pulmões foram cuidadosamente extraídos. A massa de todos os órgãos (rins, fígado, baço e pulmões) foi mensurada utilizando uma balança analítica. Além disso, o fígado e os rins foram submetidos à análise histológica.

$$\text{Massa relativa do órgão} = (\text{massa do órgão}/\text{massa corporal}) \times 100 \%$$

As amostras de sangue foram analisadas para avaliação bioquímica das funções hepáticas usando as enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (ALP), e a função renal, usando ureia e creatinina (Costa-Silva et al., 2008).

Todas as análises foram realizadas em triplicata para cada amostra no Autoanalisador CMD 800i X1 dos Sistemas Modulares (Wiener Lab, São Paulo, Brasil), utilizando kits disponíveis comercialmente e baseados em métodos espectrofotométricos bem estabelecidos, seguindo os manuais do fabricante. Figura 3.

Figura 4: Modelo de toxicidade aguda oral em camundongos.



Fonte: O autor (2024).

4.7 Análise histológica do Rim e Fígado

Os órgãos de cada animal (fígado e rim) foram coletados através de dissecação. As amostras foram fixadas em formaldeído a 10% por 72 horas. Após esse período, o material foi cortado para obtenção da porção de interesse e colocado em saco identificado.

As amostras foram desidratadas em 7 banhos de álcool etílico absoluto em concentrações crescentes (1h em cada álcool), depois diafanizadas em 2 banhos de xileno (1h em cada xileno),

e por fim mergulhadas em 2 banhos de parafina histológica (1h em cada parafina). Esse processo acontece no Histotécnico Leica Modelo TP1020. Na placa quente da central de inclusão (Leica modelo EG1160), as amostras foram colocadas na forma de alumínio para a confecção dos blocos de parafina. Os moldes de alumínio com as amostras foram colocados na placa fria da central de inclusão (Leica modelo EG1160) para solidificação da parafina.

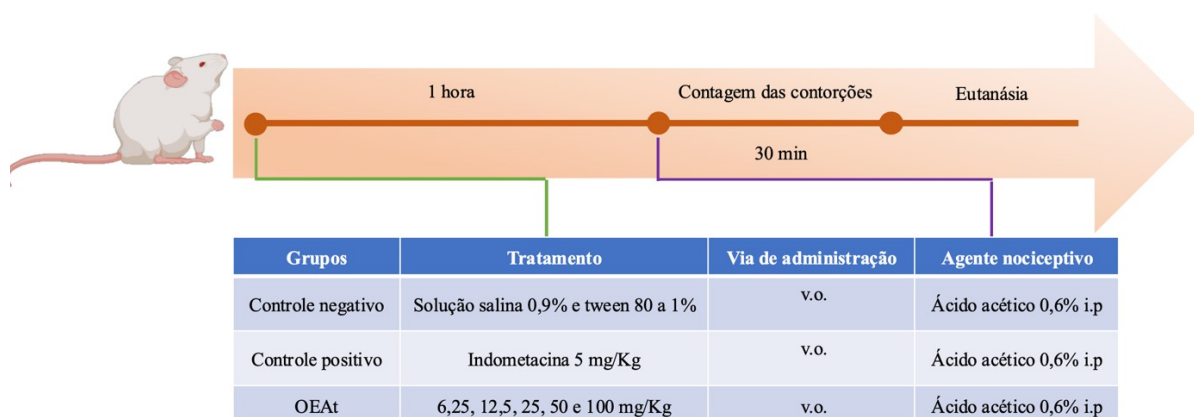
Os blocos de parafina foram submetidos a microtomia (Micrótomo Leica modelo RM2255) para obtenção de cortes com 5 μm de espessura. Os cortes foram colocados em lâminas de vidro devidamente identificadas (Wang et al., 2022). Após a conclusão dos processos, o Prof. Dr. José Nazareno Cunha Negrão, profissional especialista em histopatologia, analisou as lâminas.

4.8 Atividades Antinociceptivas

4.8.1. ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA PERIFÉRICA – TESTE DE CONTORÇÃO ABDOMINAL

As contorções abdominais foram induzidas pela administração de ácido acético (0,6%), que promove a contração dos músculos abdominais dos animais (Conegundes et al., 2021). Os animais foram divididos em sete grupos de seis animais cada. O grupo controle negativo foi tratado com solução salina (0,9%), o grupo controle positivo com indometacina (5 mg/kg), e outros grupos restantes foram tratados com o óleo a 6,25, 12,5, 25, 50 e 100 mg/kg. Após 60 minutos de tratamento, os grupos receberam uma injeção de ácido acético (0,6%, v/v em soro fisiológico, 10 ml/kg). Após a administração de ácido acético, durante 30 minutos foram contadas o número de contorções realizadas. A atividade antinociceptiva foi expressa pela redução do número de contorções abdominais.

Figura 5: Modelo de atividade analgésica periférica.

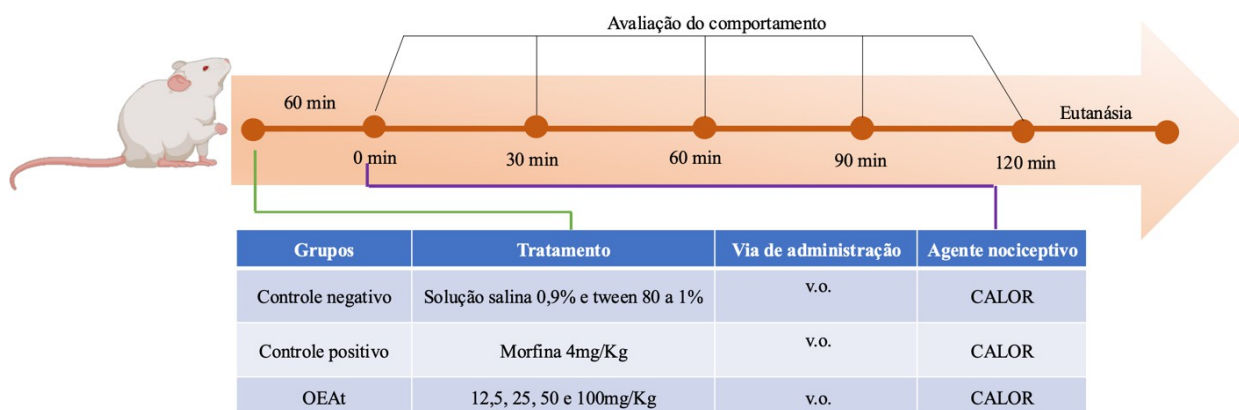


Fonte: O autor (2024).

4.8.2 ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA CENTRAL - TESTE DA PLACA QUENTE

Os animais foram divididos em seis grupos com seis indivíduos e submetidos a um pré-teste com a placa aquecida a $55 \pm 0,5$ °C. Os animais que reagiram ao estímulo térmico após 10 s de exposição foram excluídos do teste para garantir a homogeneidade da amostra. As respostas ao estímulo térmico foram o ato de lamber as patas. Após a seleção, os animais foram tratados oralmente com solução salina 0,9%, morfina 4 mg/kg ou o óleo essencial de *A. triplinervis* a 12,5, 25, 50 e 100 mg/kg. Em seguida, os animais foram colocados individualmente sobre a placa quente e observados por 30, 60, 90 e 120 minutos. O tempo necessário para o animal experimentar a reação dolorosa foi cronometrado e cada animal foi exposto à placa quente por um tempo máximo de 30 segundos para evitar danos aos tecidos (Deng et al., 2021).

Figura 6: Modelo do teste de placa quente.



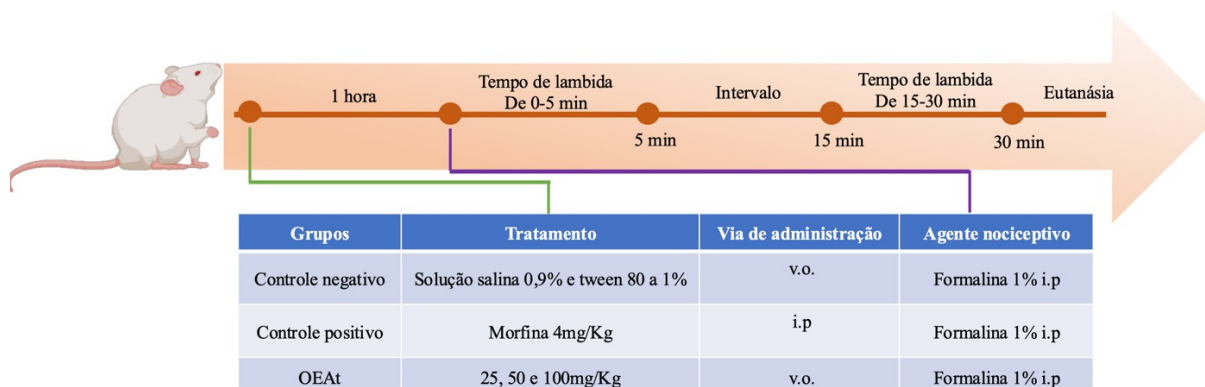
Fonte: O autor (2024).

4.8.3. TESTE DE NOCICEPÇÃO INDUZIDO POR FORMALINA

Foi utilizado um teste de nocicepção, induzido pela injeção intraplantar de formalina para confirmar o efeito antinociceptivo do óleo. Os animais foram divididos em cinco grupos de seis animais tratados com solução salina 0,9%, morfina (4 mg/kg), ou o óleo nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg. Sessenta minutos após o tratamento, os animais receberam 20 µl de injeção intraplantar de formalina 1% (v/v) na pata traseira direita.

Em seguida, os animais foram colocados em câmaras de acrílico, e o tempo de lambida/mordedura da pata foram contados durante 30 min. O tempo do teste foi dividido em duas fases, sendo a fase I, de 0-5 min (nocicepção central) e fase II, 15-30 min (nocicepção periférica) após a administração de formalina (Hunskar et al. 1985).

Figura 7: Modelo de nociceção induzido por formalina.



Fonte: O autor (2024).

4.9 Avaliação do mecanismo de ação da atividade antinociceptiva: Sistema opióide

Para avaliação do sistema opioide na atividade antinociceptiva do OEAt, os animais foram pré-tratados com naloxona (5 mg/kg i.p.), um antagonista não seletivo de receptores opióides, 15 minutos antes da administração do óleo (100 mg/kg, v.o., n=6), morfina (4 mg/kg i.p., n=6) ou veículo (solução salina e tween 80 a 1%, v.o., n=6). Estes grupos receberam seus respectivos tratamentos 60 minutos antes da injeção de formalina (Jin et al. 2010).

4.10 Avaliação da atividade locomotora: teste de campo aberto

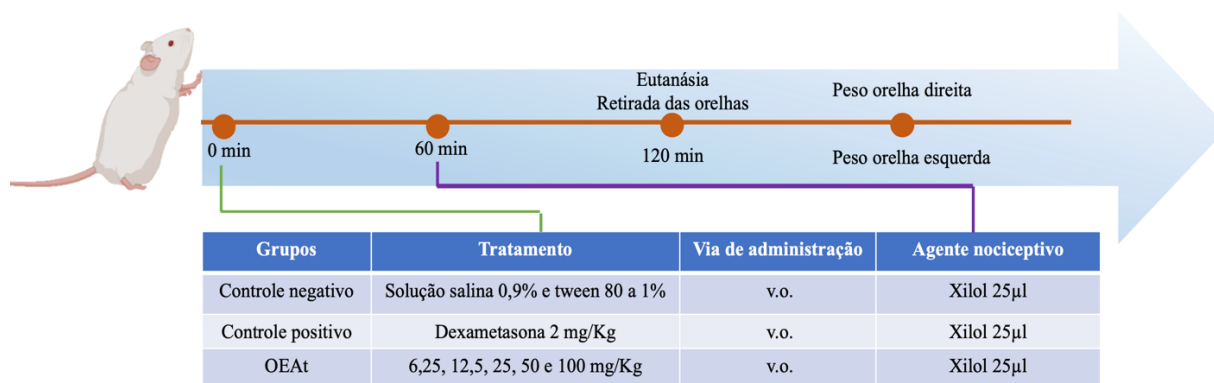
O teste de campo aberto foi realizado para excluir a possibilidade de a ação antinociceptiva do óleo essencial estar relacionada a efeitos inespecíficos na atividade locomotora dos animais (Rodrigues et al. 2002). Os animais foram divididos em três grupos de seis animais, sendo tratados com óleo essencial de *A. triplinervis* (100 mg/kg, via oral) e solução salina (soro fisiológico e Tween 80 a 1%, via oral) 1 hora antes do experimento. No grupo controle, diazepam (2 mg/kg, i.p.) foi administrado 30 minutos antes do teste. Após 30 minutos dos tratamentos, os animais foram colocados no centro da arena quadrada de campo aberto (30 cm x 30 cm x 15 cm com piso dividido em 9 quadrantes) feito de acrílico, e durante 5 minutos foram contados os números de quadrantes cruzados com todas as patas dos animais.

4.11 Teste de inchaço da orelha induzido por xilol

Sete grupos de seis camundongos foram tratados oralmente com água destilada (solução salina e 1% Tween 80, 10 ml/kg), o óleo (6,25, 12,5, 25, 50 e 100 mg/kg) e a dexametasona (2 mg/kg). Sessenta minutos após o tratamento, o edema foi induzido em cada animal através da aplicação de xileno (50 µL) no ouvido direito (25 µL na superfície anterior e

posterior). A orelha esquerda foi usada como controle. Após 1 hora, os camundongos foram eutanasiados, e uma seção circular (7 mm de diâmetro) de suas orelhas esquerda e direita foram removidas e pesadas. O edema foi caracterizado pela diferença de massa (em miligramas) entre as seções circulares da orelha direita e esquerda (Ibrahim et al., 2012).

Figura 8: Modelo de teste de edema de orelha induzido por xilol.



Fonte: O autor (2024).

4.12 Análise Estatística

Os dados obtidos foram registrados em protocolos de pesquisa e posteriormente submetidos à análise estatística por meio do Software Bioestat 5.0, considerando $\alpha=5\%$. O teste de Lilliefors analisou a normalidade de todos os testes. O teste estatístico ANOVA (um critério) foi selecionado para comparar os resultados de cada amostra paramétrica, e o teste de Tukey foi utilizado como pós-teste.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição do óleo essencial de *Ayapana triplinervis*.

O rendimento do OEAt foi de 4,6%. A Tabela 1 apresenta os 21 constituintes identificados no OE de *A. triplinervis*, listados em ordem crescente de seus respectivos índices de retenção (IR), que compreendem em média 95,3% do conteúdo total dos OE.

Tabela 1: Composição química do óleo essencial de *A. triplinervis*

IR(C)	IR(L)	Rendimento Consituente	4,6 %
972	972 ^b	sabineno	0,1
1030	1032 ^b	1,8-cineol	0,1
1234	1032 ^a	éter de metiltimol	0,3
1243	1239 ^a	éter de metilcarvacrol	0,2
1292	1293 ^b	timol	0,2
1301	1298 ^a	carvacrol	tr
1361	1362 ^b	silfiperfol 4,7(14) dieno	0,1
1376	1375 ^b	α -copaeno	tr
1392	1389 ^a	β -elemeno	1,3
1399	1389 ^a	cipereno	0,9
1415	1406 ^b	α -gurjuneno	0,1
1420	1424^b	<i>E</i>-cariofileno	9,4
1428	1424^a	2,5-dimetoxi-<i>p</i>-cimeno	63,6
1454	1454 ^a	α -humuleno	0,4
1461	1461 ^b	6-dimetoxi-ageratochromeno	0,1
1470	1471 ^a	4,5-di- <i>epi</i> -aristolocheno	0,2
1475	1476 ^a	Selina-4,11-dieno	1,1
1487	1489^a	β-selineno	16,4
1505	1505 ^b	α -bulneseno	0,6
1521	1511 ^b	<i>Z</i> - γ -bisaboleno	0,2
1654	1651 ^b	pogostol	0,2
Hidrocarbonetos Monoterpênicos			0,1
Monoterpeno Oxigenados			64,3
Hidrocarbonetos Sesquiterpênicos			29,8
Sesquiterpeno Oxigenados			0,2
Total identificado			95,3

IR(C): Índice de Retenção calculado; IR(L): Índice de Retenção da literatura tr: traços (% < 0,1); a: Adams, 2007 b: FFNSC (Mondello, 2011).

Fonte: O autor, 2024.

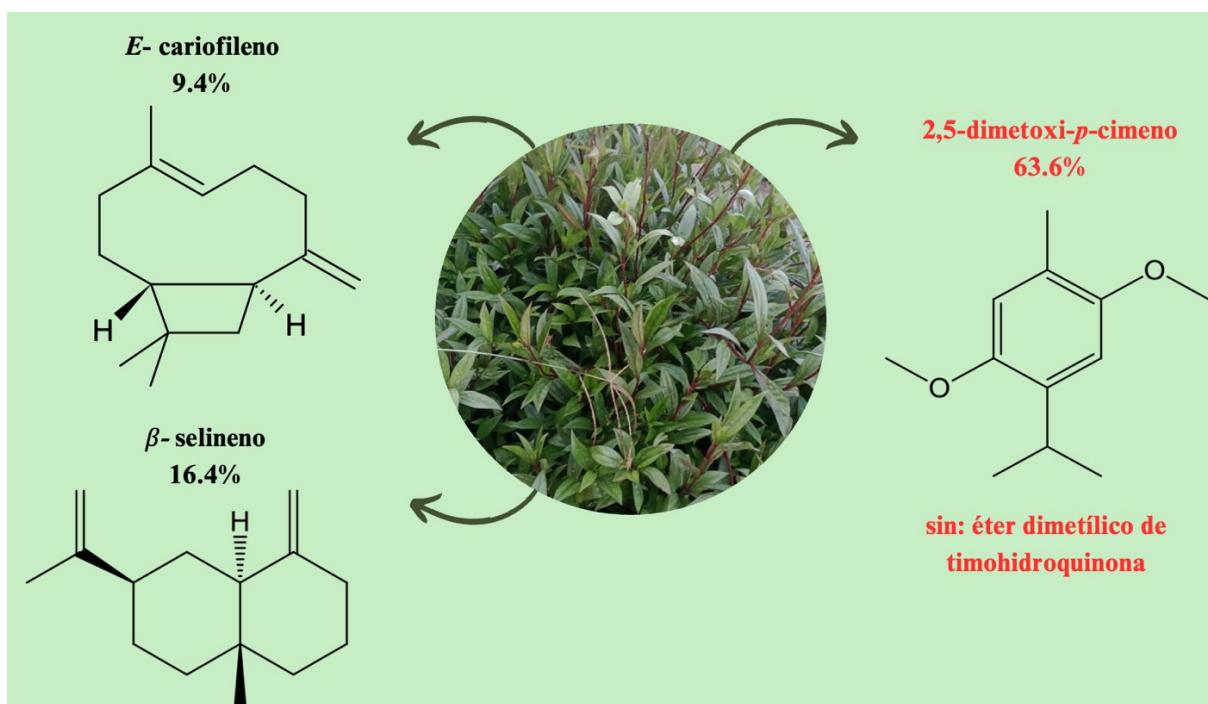
As principais classes dos constituintes foram os monoterpeno oxigenados (64,3%), seguido dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos (29,8%). O monoterpeno oxigenado 2,5-dimetoxi-*p*-cimeno (63,6%), foi o composto majoritário deste estudo. Outros compostos foram

identificados em quantidades menores como os sesquiterpenos hidrocarbonetos β -selineno (16,4%) e *E*-cariofileno (9,4%) (Figura 9).

Segundo Rodrigues et al. (2021), dois espécimes (A e B) de *A. triplinervis* coletados no Distrito de Fazendinha, em Macapá, (Amapá, Brasil) apresentaram como principais constituintes: *E*-cariofileno (45,93%) e éter dimetílico de timohidroquinona (32,93%) na amostra A; e o éter dimetílico de timohidroquinona (84,53%) foi encontrado na amostra B.

De acordo com Haddad et al. (2019) o composto 2,5-dimetoxi-*p*-cimeno, isolado do óleo essencial extraídos das folhas de *A. triplinervis*, demonstrou ser um potente inibidor da infecção pelo Zica vírus em células humanas. Além disso, a avaliação da biossegurança deste constituinte, realizadas em peixes-zebra, revelou que sua administração não causa sinais de estresse nem impacta a sobrevivência dos animais, evidenciando a ausência de toxicidade nesse modelo experimental.

Figura 9: Estruturas químicas dos compostos identificados no óleo essencial das folhas de *Ayapana triplinervis*.



Fonte: Adams, 2007.

O β -selineno, é um sesquiterpeno hidrocarboneto identificado principalmente em espécies da família Asteraceae. Estudos do óleo essencial das partes aéreas de *Artemisia annua*, composto majoritariamente por cânfora (44%), germacreno D (16%), *trans*-pinocarveol (11%) e β -selineno (9%), demonstrou atividade antioxidante e antimicrobiana por inibição do

crescimento da bactéria Gram-positiva *Enterococcus hirae* (Juteau et al, 2002). A presença de β -selineno também contribui para o aroma herbáceo, cuja intensidade pode variar dependendo das condições de cultivo em diferentes regiões (Piton, 2022).

O *E*-cariofileno é um composto conhecido por seu odor amadeirado robusto e amplas aplicações cosméticas e alimentares. Na medicina tradicional, esse composto tem sido associado ao aumento da eficácia de quimioterápicos, promovendo efeitos antineoplásicos complementares e reduzindo a dor oncológica refratária (Da Cruz et al., 2023).

Dessa forma, a composição química identificada no óleo essencial de *A. triplinervis* reforça trabalhos anteriores que destacam o potencial biológico de seus principais constituintes, especialmente em atividades antioxidantes, antimicrobianas e antivirais. Além disso, a presença de compostos como o *E*-cariofileno e o β -selineno sugere propriedades relevantes no contexto da antinocicepção e da modulação inflamatória, ampliando as perspectivas para o uso terapêutico desse óleo essencial.

5.2 Toxicidade oral aguda.

Os animais tratados com óleo essencial de *A. triplinervis*, na dose de 2.000 mg/kg por via oral, não apresentaram alterações nos padrões de comportamento ou mortalidade. Assim, a dose letal mediana (DL 50) do OEAt para a via oral é superior a 2.000 mg/kg, indicando sua baixa toxicidade aguda (OECD, 2002). Além disso, não foram observadas diferenças nos pesos relativos dos órgãos dos animais tratados com OEAt, quando comparados ao grupo controle (Tabela 2).

Tabela 2: Efeito do óleo essencial sobre o peso relativo dos principais órgãos dos camundongos tratados com OEAt e grupo controle.

Grupo	Peso relativo dos órgãos			
	Fígado	Baço	Rim	Pulmão
Controle	2,69 ± 0,16	0,27 ± 0,10	0,50 ± 0,09	0,43 ± 0,03
OEAt 2000 mg/kg	2,46 ± 0,30	0,15 ± 0,03	0,39 ± 0,07	0,28 ± 0,04

Cada coluna representa a média e SEM (erro padrão da média), de 8 animais. (ANOVA, seguida de pós-teste de Tukey).

O fígado é um órgão vital para a sobrevivência de um animal, desempenha um papel crucial na desintoxicação do corpo e no auxílio ao metabolismo de diversas substâncias, inclusive drogas. Portanto, a avaliação dos parâmetros bioquímicos relacionados à função hepática e posterior triagem de novos medicamentos é de extrema importância. Marcadores

bioquímicos como aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (ALP) são usados para esse fim (Su et al. 2020). Neste estudo, essas enzimas foram semelhantes nos grupos tratados com OEAt (2.000 mg/kg), e controle, indicando a resiliência do fígado e a possível segurança do óleo essencial. A Tabela 3 fornece uma comparação detalhada dos níveis de ALP, AST e ALT nos grupos de controle e tratamento.

Tabela 3: Efeito da dose aguda de OEAt nos parâmetros bioquímicos de camundongos.

Parâmetros bioquímicos	Unidade	Grupo de OEAt	
		Controle	2.000 mg/kg
Aspartato aminotransferase	U/L	254,1 ± 95,7	267,0 ± 159,5
Alanina aminotransferase	U/L	71,3 ± 10,7	79,1 ± 20,4
Fosfatase Alcalina	U/L	408,9 ± 54,6	485,9 ± 86,1
Creatinina	mg/dL	0,22 ± 0,07	0,23 ± 0,05
Ureia	mg/dL	68,3 ± 6,5	66,3 ± 11,9

Os dados representam média ± SEM. (erro padrão da média), de 8 animais por grupo. Foi utilizada a normalidade, seguida do pós-teste de Tukey. Todos os valores na mesma linha não apresentam diferenças estatísticas.

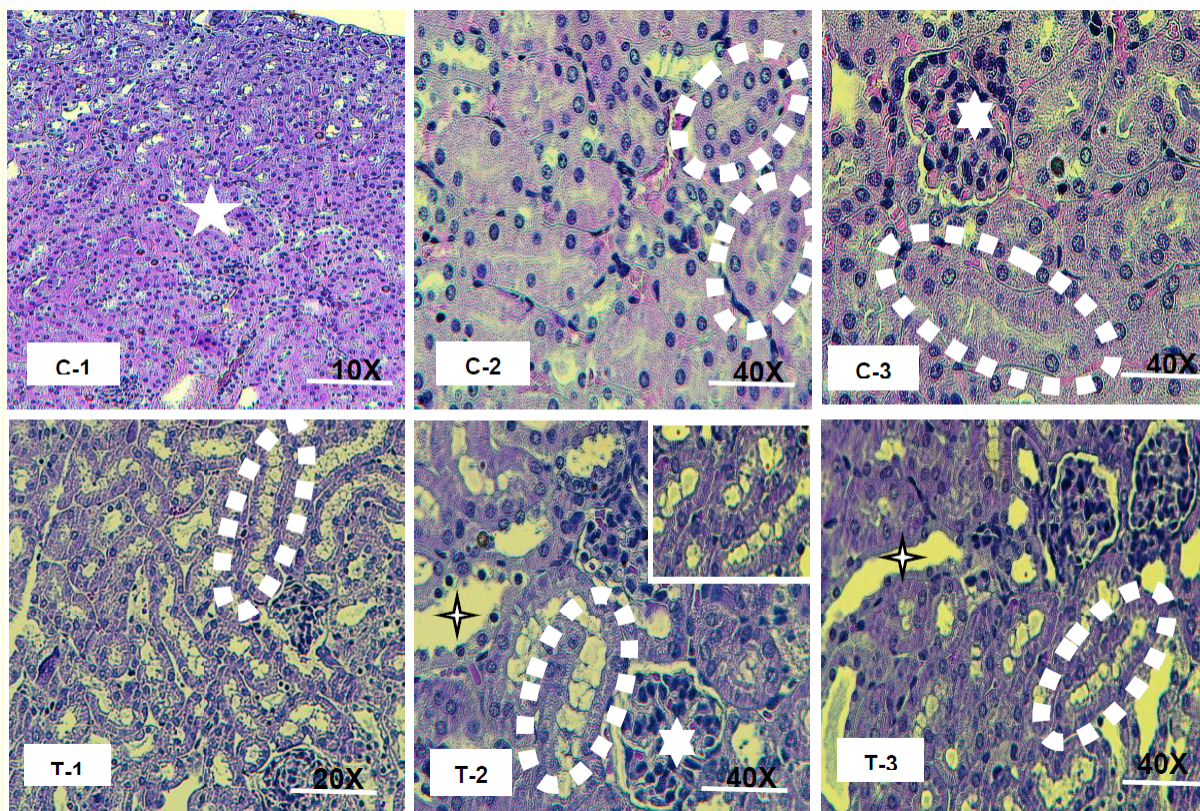
Os níveis séricos de ureia e creatinina são biomarcadores da função renal que determinam a taxa de filtração glomerular e a função excretora, respectivamente. Dessa forma, os aumentos das referidas concentrações são indicadores de disfunção renal (Zhang e Parikh, 2019). Os resultados do grupo tratado com o OEAt para ureia e creatinina foram semelhantes ao grupo controle, não indicando alteração dos marcadores bioquímicos séricos renais com a dose de 2000mg/kg (Tabela 3). No teste com o de óleo essencial de *Tagetes parryi* (Asteraceae), todos os animais sobreviveram mesmo com a dose mais elevada (2000 mg/kg po). Portanto, o LD 50 do OE é superior a 2.000 mg/kg. Na avaliação da toxicidade aguda do OETP, os camundongos não apresentaram alterações comportamentais, sinais de toxicidade ou morte após a administração do mesmo na dose de 2.000 mg/kg (González-Velasco et al, 2022).

Em relação à análise histológica renal, os cortes histológicos renais dos animais do grupo tratado (OEAt) foram comparáveis aos animais pertencentes ao grupo controle. Portanto, o rim dos animais do grupo controle apresentaram células e/ou tecidos normais em suas regiões corticais e medulares (Figura 10: C-1, C-2 e C-3). Mesmo assim, nos animais do grupo tratado com OEAt na dose de 2.000 mg/kg, foram observadas leves alterações celulares e teciduais (Figura 10: T-1, T-2 e T-3).

Na região cortical renal, as células epiteliais que compunham o revestimento dos túbulos contorcidos proximais demonstraram falta de caracterização de suas regiões apicais, nas quais não foi possível observar a presença de microvilosidades. Outro aspecto muito relevante foi a presença de inúmeras vesículas citoplasmáticas, localizadas na porção apical dessas células de revestimento tubular. Em relação a essas alterações celulares, é relevante destacar que esses túbulos contorcidos próximos apresentam importante atração funcional renal, como absorção de aminoácidos, polipeptídeos, açúcares e sais.

Considerando a relevância funcional das estruturas renais, pode-se inferir que as alterações, de suposta natureza citotóxica, podem ser indicativas de que o tratamento deve ter causado algum grau de comprometimento ou distúrbio funcional às estruturas corticais renais. Na mesma região renal, os túbulos contorcidos distais não apresentavam alterações histopatológicas visíveis.

Figura 10: Fotomicrografia do córtex renal dos animais do grupo controle (C-1, C2 e C3) e grupo tratamento (T1, T-2, T-3).



C-1, C2 e C3: A estrela indica o córtex renal com dimensões e estruturas teciduais normais; Os círculos pontilhados indicam túbulos contorcidos proximais; A estrela de seis pontas indica um glomérulo renal, que constitui um corpúsculo renal; a elipse indica um túbulo contorcido proximal. T-1 e T-2: Elipses indicam túbulos contorcidos proximais com presença de vesículas citoplasmáticas (T-2: detalhe no encarte); a estrela de quatro pontas indica túbulos contorcidos distais, sem alterações visíveis. T-3: A elipse indica túbulo contorcido proximal, cujas células

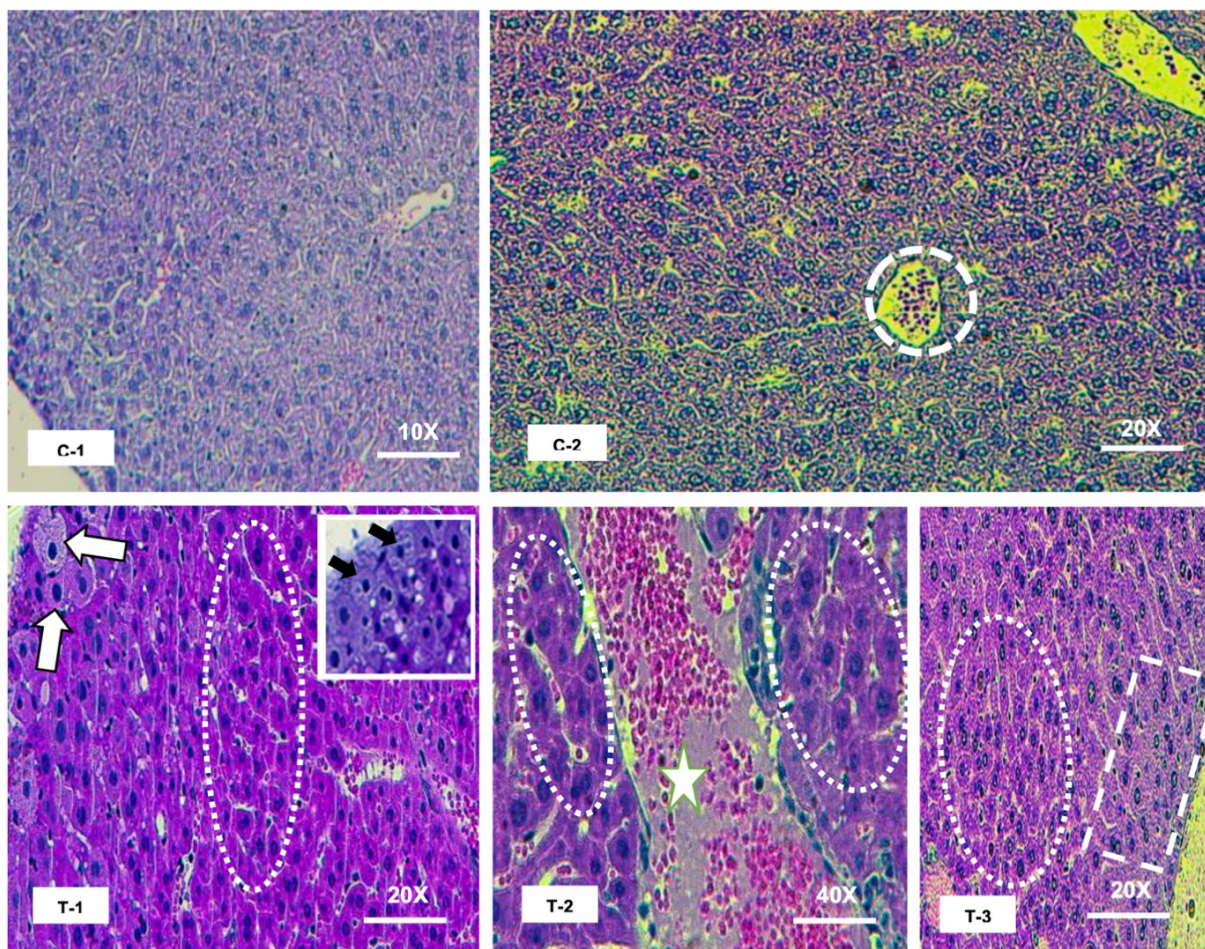
de revestimento apresentam alterações apicais (ausência de borda em escova ou microvilosidades), bem como presença de grande quantidade de vesículas citoplasmáticas.

Quanto à hepatotoxicidade, nos animais do grupo tratado com OEAt na dose de 2.000 mg/kg, houve indícios de citotoxicidade (Figura 11, T-1 e T-2). Na porção mais periférica do parênquima hepático foram observados ninhos de hepatócitos em aparente processo de necrose celular, com evidente picnose nuclear e citoplasma com intensa eosinofilia. Porém, a picnose nuclear, observada nos hepatócitos, foi a alteração histopatológica mais frequente identificada nos animais pertencentes ao grupo tratado com OEAt. A fotomicrografia T-3 da Figura 10 mostra ninhos de células hepáticas em picnose nuclear, na região mais periférica do parênquima hepático, contrastando com as porções mais internas deste parênquima, nas quais foram observados hepatócitos com padrões morfológicos normais.

Além dessas alterações, as análises microscópicas também revelaram outros indícios de alterações histopatológicas, como necrose de coagulação nas veias portais hepáticas do sistema hepático ou tríades portais.

Portanto, os animais que receberam tratamento com OEAt demonstraram algum grau de distúrbio ou alteração citotóxica e histopatológica. Porém, considerando essas alterações, vale destacar que o órgão possui características intrínsecas de adaptação e/ou desintoxicação de substâncias com relativo grau hepatotóxico. Assim, algumas alterações morfológicas nas células hepáticas, aqui identificadas, indicam que elas estão envolvidas em mecanismos adaptativos de desintoxicação adotados por essas células hepáticas.

Figura 11: Fotomicrografia do parênquima hepático dos animais do grupo controle (C-1 e C2) e grupo tratamento (T1, T-2 e T3).



Em C-2: O círculo tracejado indica veia lobular central ou veia central com contornos normais sem presença de infiltrado linfocitário. Em T-1, as setas largas brancas e curtas pretas (inserir) indicam hepatócitos em sugestivo necrose celular; elipse pontilhada indica ninho de hepatócitos em aparente processo de necrose celular, com núcleos picnóticos e citoplasma em intensa eosinofilia (cor rosa muito intensa). Em T-2, as elipses indicam ninhos de hepatócitos em necrose; A estrela está em uma veia de uma tríade portal com sugestiva necrose de coagulação. Em T-3, a elipse pontilhada delimita um ninho de células hepáticas em necrose na porção mais periférica do parênquima hepático; retângulo delimitando a área mais profunda do parênquima hepático.

5.3 Efeitos nas contorções induzidas por ácido acético.

O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético é um modelo clássico de triagem para dor visceral, onde a intensidade nociceptiva é relativa ao número total de contrações da parede abdominal observadas (Da Fonseca et al., 2021). A injeção intraperitoneal de ácido acético promove a liberação dos mediadores endógenos como histamina, bradicinina, serotonina e prostaglandinas (Malpezzi-Marinho et al., 2019). Assim, esse método diferencia substâncias com potencial antinociceptivo e efeito periférico ao envolver a liberação de TNF- α e prostaglandina E2 que sensibilizam as fibras nociceptivas e induzem hiperalgesia,

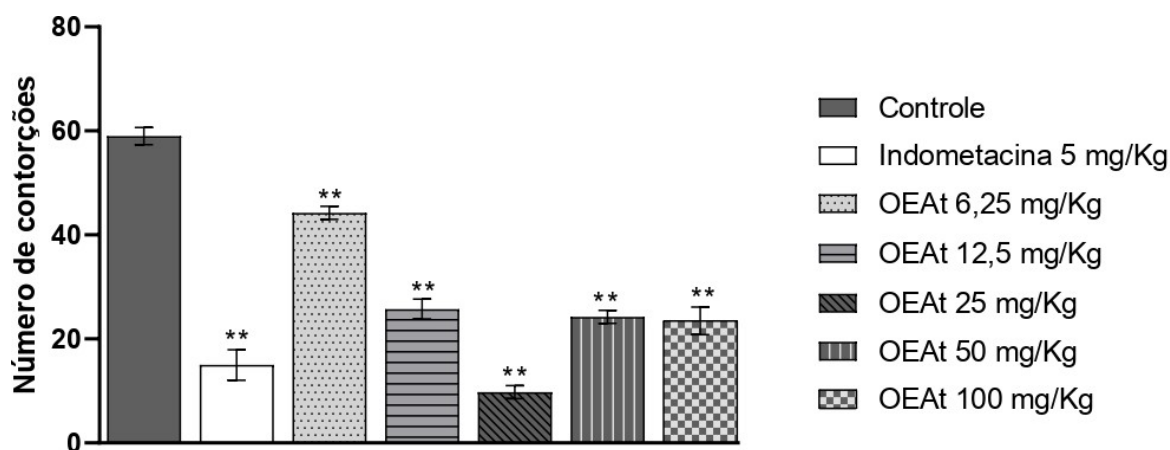
desempenhando um papel fundamental nos comportamentos de contorção (Pacheco et al., 2022; Park et al., 2004).

Os resultados demonstraram redução significativa no número de contorções abdominais pelo OEAt (6,25, 12,5, 25, 50 e 100 mg/kg, figura 12) em comparação ao grupo controle ($p < 0,01$), com porcentagens de inibição de 21%, 54%, 91%, 58% e 55%, respectivamente. A indometacina (5 mg/kg v.o.), utilizada como fármaco padrão, também apresentou eficácia significativa ($p < 0,01$), com inibição de 74%, confirmando sua eficiência enquanto analgésico. Dessa forma, o OEAt possui ação analgésica periférica ao inibir a sensação dolorosa provocada por mediadores pró-inflamatórios. Além disso, o OEAt apresentou atividade dose dependente na faixa de 6,25 a 25 mg/kg, com percentual de inibição descrito pela equação

$$\% \text{ Inibição} = 1,55 \ln(\text{DOSE}) + 1,29 \quad (r^2 = 0,8519)$$

A dose eficaz mediada (DE50) foi determinada como 15,02 mg/kg.

Figura 12: Efeitos antinociceptivos do OEAt (6,25, 12,5, 25, 50 e 100 mg/kg), indometacina (5 mg/kg) e veículo no número de contorções em dor visceral causada pelo ácido acético.



Os valores representam média ± SEM (erro padrão da média) (n = 6 por grupo). ** $p < 0,01$ denota diferença estatística em comparação com ratos tratados com veículo. ANOVA, seguindo teste de Tukey.

Fonte: O autor, 2024.

A interação entre a quantidade administrada e a resposta observada dos óleos essenciais abrange conceitos fundamentais de como essas substâncias são absorvidas e age no organismo, determinando não apenas a quantidade e a frequência ideal de administração, mas também o índice terapêutico adequado para esses componentes na população (Sattayakhom, et al. 2023; Karpiński, 2020).

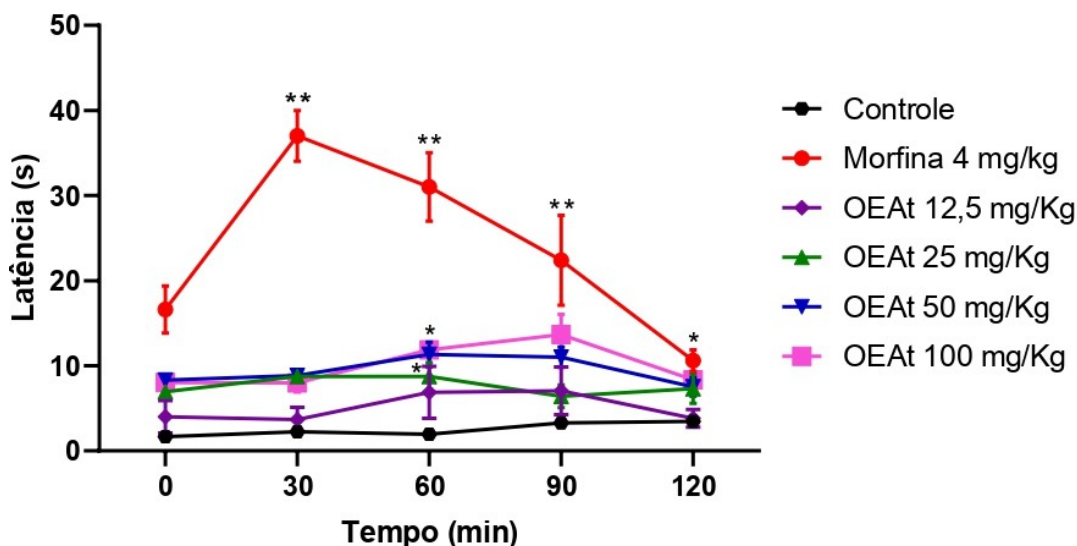
Desse modo, independentemente das formas pelas quais essas composições induzam efeitos, seja por meio de ligação ou interação química; o que controla o resultado é a

concentração de substância química no local de ação (Vincent, et al. 2019; Yang, et al. 2021). Portanto, a incidência em quantidade pode ser complexa e frequentemente segue uma dinâmica não linear, como demonstrado neste estudo. Nesse cenário, a diminuição da quantidade administrada, ao mesmo tempo em que se mantém um índice terapêutico elevado, reduz a probabilidade de toxicidade ou ineficácia do medicamento. (Andersen, et al. 2005).

5.4 Efeito do óleo essencial de *Ayapana triplinervis* no teste da placa quente.

O teste de placa quente é descrito como modelo específico para analgésicos de efeito central que se utiliza dos parâmetros lambedura/pular como indicadores da intensidade dolorosa (Ozcan et al., 2022). Neste método, os fármacos analgésicos de ação central, como os opioides, quando submetidos ao estímulo térmico, aumentam o tempo de latência para os movimentos característicos de lambertura e retirada das patas, enquanto medicamentos como paracetamol, aspirina e ibuprofeno apresentam poucos efeitos neste teste (Verster et al. 2021; Nakhaee et al. 2021). O efeito do óleo essencial de *Ayapana triplinervis* é mostrado na figura 13.

Figura 13: Efeito do óleo de *Ayapana triplinervis* (12.5, 25, 50 e 100 mg/kg), morfina (4 mg/kg) e controle (solução salina a 0,9%) no teste da placa quente em camundongos.



**p < 0,01 denota diferença estatística em comparação com ratos tratados com veículo. ANOVA, seguindo teste de Tukey.

Fonte: O autor, 2024.

No teste de placa quente, o OEAt apresentou aumento significativo do tempo de latência no intervalo de 60 minutos nas doses de 25mg/kg ($11,3 \pm 3,3s$) e 100mg/kg ($11,9 \pm 0,9s$),

quando comparado ao grupo controle negativo 60 ($1,96 \pm 0,43$ s). A morfina utilizada enquanto fármaco padrão apresentou aumento no tempo de latência nos períodos de 30min ($28,28 \pm 5,93$ s), 60min. ($26,40 \pm 4,34$ s) e 90 minutos ($15,60 \pm 2,30$ s) em relação ao grupo controle negativo 30 min ($2,19 \pm 0,59$ s), 60 min ($1,96 \pm 0,43$ s) e 90 min ($3,20 \pm 0,57$ s) (* $p < 0,001$). Estes resultados indicam que o OEAt apresentou ação antinociceptiva central.

5.5 Efeito do óleo de *Ayapana triplinervis* na dor aguda induzida por formalina.

O teste de lambedura de pata induzido por formalina foi utilizado para confirmar a atividade antinociceptiva do OEAt. Este modelo envolve mecanismos de dor periféricos e centrais (Conegundes et al., 2021; Bai et al., 2023). Assim, a injeção intraplantar de formalina produz estímulos similares a dor clínica caracterizada por duas fases de comportamento nociceptivo. A primeira fase denominada neurogênica ou difusa (5 minutos iniciais) subsequente a aplicação da formalina, compreende o processo de estimulação dos neurônios sensoriais primários pela substância P e bradicinina, que é seguida pela segunda fase (15 minutos finais) também chamada de tardia ou crônica, ao nível da medula espinhal, e persiste por até 30 minutos envolvendo o processo inflamatório dos mediadores histamina, a serotonina, as prostaglandinas e a bradicinina e a sensibilização a nível central, por meio da ativação de neurônios do corno ventral (Dubuisson et al. 1977). Os medicamentos opioides são eficazes nas duas fases do teste, em contrapartida, os anti-inflamatórios não esteroidais são eficazes apenas na segunda fase (Zheng et al., 2010).

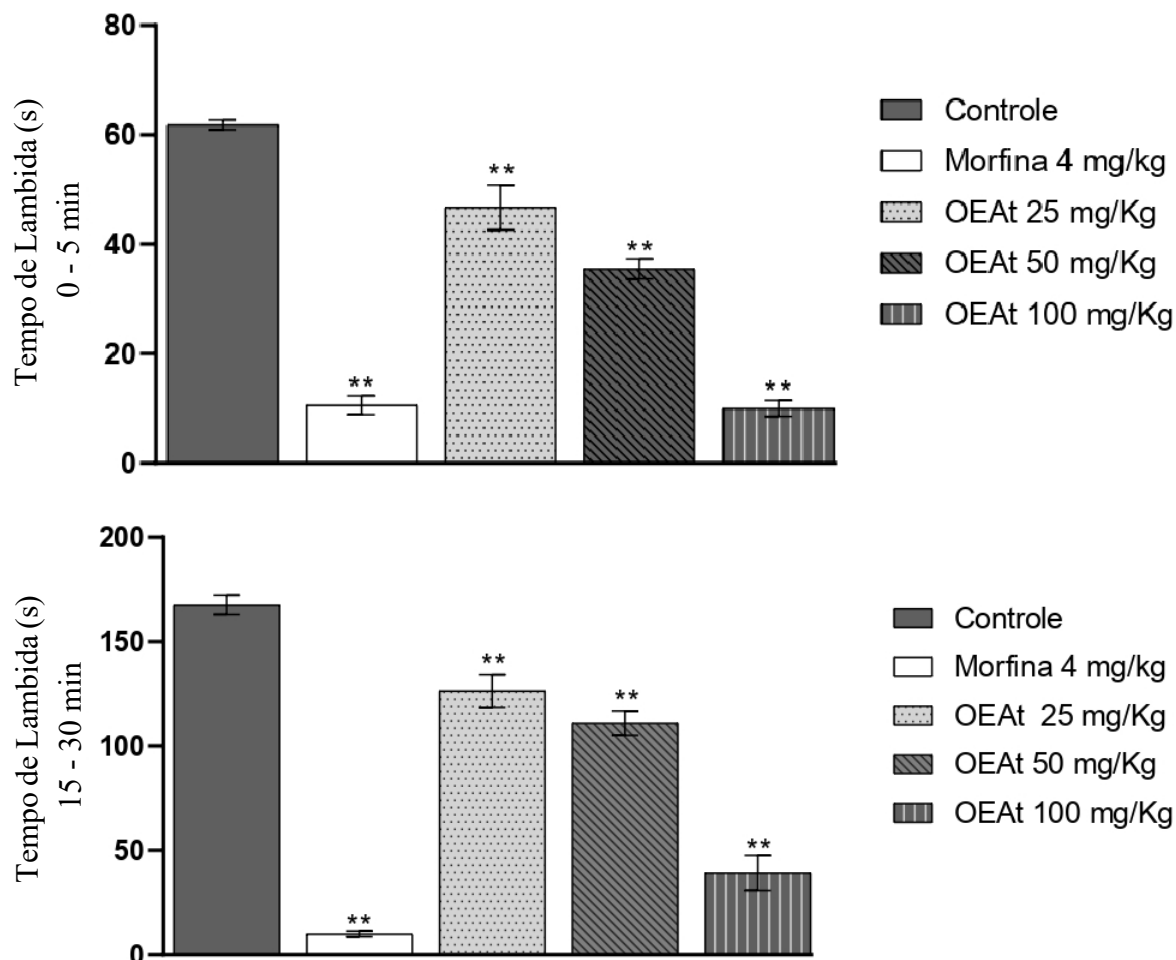
O efeito do OEAt na primeira e segunda fase do teste de lambedura de pata induzido por formalina, é demonstrado na figura 14. Na primeira fase que avalia a dor neurogênica, as três doses de estudo (25, 50 e 100mg/kg) apresentaram inibição significativa (** $p < 0,01$) do tempo de lambedura da pata de 22%, 38% e 83% respectivamente, quando comparado ao grupo controle. A morfina (4 mg/kg) também reduziu significativamente esse parâmetro (83%) quando comparada ao controle (** $p < 0,01$). Além disso, o OEAt apresentou atividade dose dependente, com percentual de inibição descrito pelas equações:

$$\% \text{ Inibição} = 1,24 \text{ Ln DOSE} + 0,10 \text{ (} r^2 = 0,93 \text{)} - 1^{\text{a}} \text{ Fase}$$

$$\% \text{ Inibição} = 1,04 \text{ Ln DOSE} + 0,85 \text{ (} r^2 = 0,9 \text{)} - 2^{\text{a}} \text{ Fase}$$

A dose eficaz mediada na primeira e segunda fase da DE50 foi determinada como 51,9 e 54,6 mg/kg, respectivamente.

Figura 14: Efeitos antinociceptivos do OEAt, morfina e veículo (1% tween 80 diluído em solução salina estéril, 10 mL/kg) no tempo de lambida da pata traseira direita pelo ensaio de formalina: (Fase 1) Fase neurogênica e (Fase 2) Fase inflamatória.



Os valores representam média \pm SEM (erro padrão da média) (n = 6 por grupo). **p < 0,01 denota diferença estatística em comparação com ratos tratados com veículo. ANOVA, seguindo teste de Tukey.

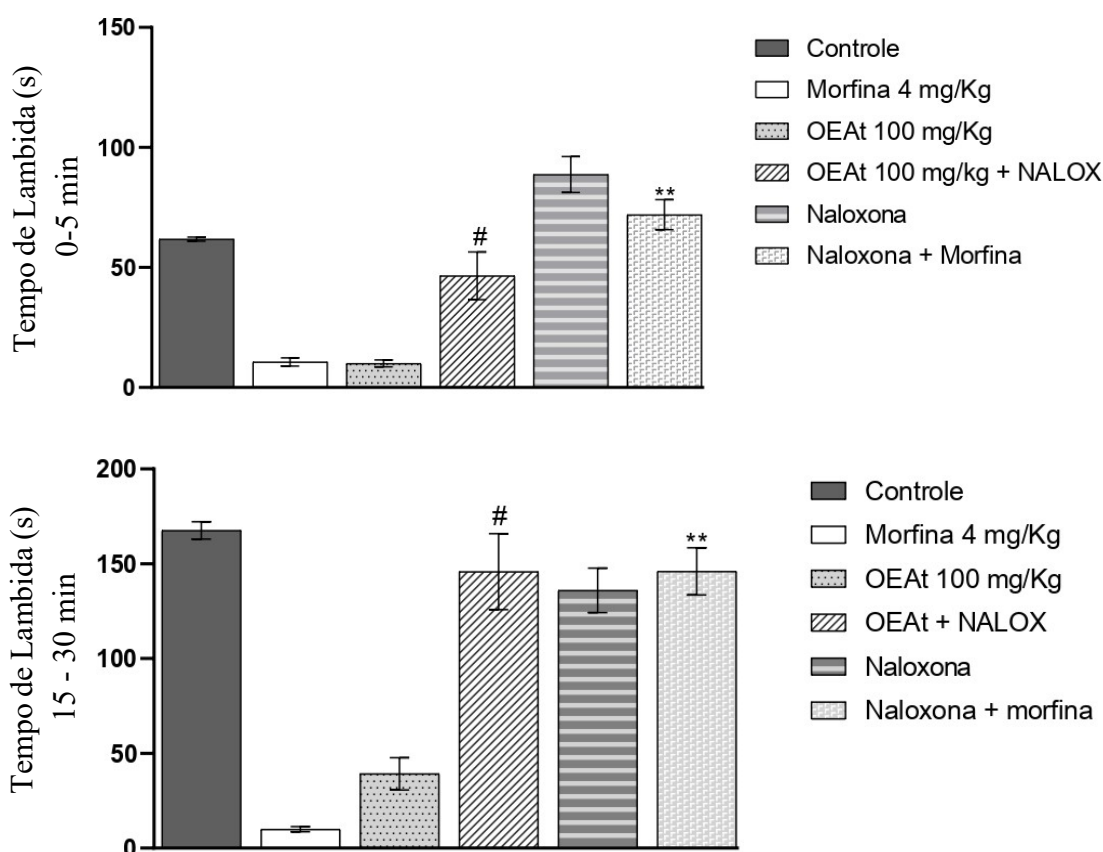
Fonte: O autor, 2024

Na segunda fase, que avalia dor inflamatória, O OEAt apresentou uma resposta dose-dependente. As doses de 25, 50 e 100mg/kg diminuíram o tempo de lambadura de pata quando comparados ao controle, com inibição de 24% (**p<0.01), 34% (**p<0.01) e 76% (**p<0.01), respectivamente. A % de inibição antinociceptiva da morfina 4 mg/kg foi de 84% (**p<0,01). Por fim, os dados apresentados demonstram que OEAt apresentam ação antinociceptiva dose dependente.

5.6 Mecanismo de ação antinociceptivo nas vias dos opioides

A naloxona é um antagonista do receptor opióide usado para avaliar a interação entre o sistema opióide e o mecanismo de modulação da dor (Ahmadimoghaddam et al. 2021). Os resultados indicaram que o pré-tratamento com naloxona anulou as propriedades analgésicas do OEAt em ambas as fases do teste da formalina (Figura 15), sugerindo o envolvimento de receptores opioides em sua ação antinociceptiva. Estes resultados revelam que a atividade antinociceptiva do OEAt pode ser mediada por receptores μ -opioides.

Figura 15: Efeito do pré-tratamento com naloxona no efeito antinociceptivo do óleo essencial de *Ayapana triplinervis* (OEAt) no tempo de lambadura da pata traseira direita pelo ensaio de formalina. A morfina foi usada como controle positivo.



Resultados expressos como média \pm SEM (n = 8). Os valores representam média \pm SEM (erro padrão da média) (n = 6 por grupo). **p < 0,01 comparando camundongos tratados com OEAt ao grupo tratado com veículo; #p < 0,05 comparando camundongos pré-tratados com o antagonista ao grupo tratado com OEAt. ANOVA, seguindo teste de Tukey.

Fonte: O autor, 2024.

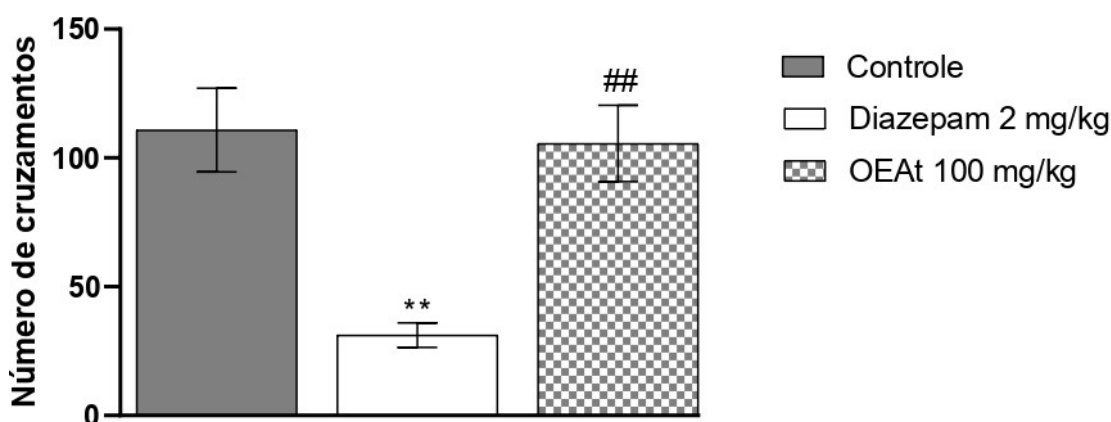
A morfina reduz a transmissão nociceptiva ativando a via inibitória descendente do sistema nervoso central (SNC) e bloqueando neurônios aferentes nociceptivos no sistema

nervoso periférico (Valle-Dorado et al. 2022). Os resultados deste estudo mostraram os efeitos potenciais da participação do OEAt no mecanismo fisiopatológico da dor através de receptores opioides, assemelhando-se ao efeito terapêutico da morfina, uma droga analgésica que produz seus efeitos ligando-se a receptores opioides no SNC.

5.7 Teste de Campo aberto

O teste de campo aberto, foi utilizado para avaliar a atividade locomotora dos animais e excluir determinadas ações sedativas ou relaxantes musculares (Barbosa et al. 2022). Dessa forma, o OEAt ($105,6 \pm 14,8$), não apresentou alteração significativa na atividade locomotora espontânea dos animais, com relação ao grupo controle ($110,8 \pm 16,3$). Por outro lado, o Diazepam 2 mg/kg ($31,2 \pm 4,8$) demonstrou redução significativa, desse parâmetro (Figura 16) Portanto, o OEAt não apresenta efeito depressivo no SNC, indicando que sua capacidade antinociceiva e seu efeito na ação do sistema nervoso podem ser independentes.

Figura 16: Efeito do OEAt na atividade locomotora de camundongos em campo aberto.



Os valores representam média \pm SEM (erro padrão da média) ($n = 6$ por grupo). ** $p < 0,01$ vs. controle; ## $< 0,01$ vs. Diazepam por ANOVA, seguindo teste de Tukey.

Fonte: O autor, 2024.

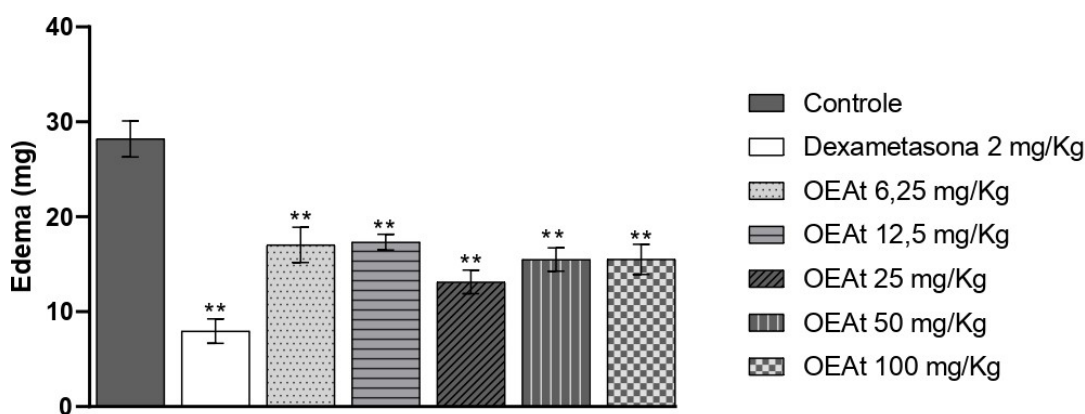
Mudanças no comportamento exploratório dos animais podem ser causadas por drogas que afetam o SNC, como os relaxantes musculares que diminuem a sensibilidade à dor. Dentre os parâmetros de nocicepção, destaca-se as drogas que podem reduzir a atividade do SNC, levando a resultados falso positivo em medidas de dor, como comprometimento da capacidade exploratória dos animais (Barbosa et al. 2022).

5.8 Efeito do óleo essencial de *Ayapana triplinervis* no teste de edema de orelha induzido por xilol

O edema de orelha em camundongos é um modelo animal muito utilizado para avaliar a atividade anti-inflamatória tópica de produtos vegetais por conta de sua rapidez de execução, fornecimento de resultados reprodutíveis, baixo custo e pouca demanda de tempo (Guo et al., 2022; Gábor, 2003).

Assim, como agente flogístico, o xileno induz o processo inflamatório em orelhas de camundongos. Além disso, a inflamação induzida por xileno provoca a liberação de substâncias bioativas de terminais nervosos que agem em células periféricas, como mastócitos e outras células do sistema imune. Nesse sentido, a liberação de substância P é o mecanismo mais comum para a indução da inflamação que possui ação central (através da indução de liberação de óxido nítrico) e periférica (mediante a indução de produção de bradicinina por células inflamatórias), causando vasodilatação e consequente exsudação do plasma, formando o edema (Singsai, 2020; Righi, 2021). O efeito anti-inflamatório do OEAt no teste de edema é mostrado na figura 17.

Figura 17: Efeitos do óleo essencial de *Ayapana triplinervis* no teste de edema de orelha com xileno.



Fonte: O autor, 2024.

Comparado ao grupo controle, o OEAt nas doses de 6,25, 12,5, 25, 50 e 100mg/kg reduziu de forma significativa o peso do edema da orelha induzido por aplicação tópica de xilol (** $p < 0,01$) com percentuais de 40%, 39%, 54%, 45%, 45%, respectivamente. A dexametasona (2 mg/kg) inibiu em 72% o edema de orelha quando comparado ao grupo controle ($p < 0,01$) Figura 16.

Um efeito anti-inflamatório caracteriza a inibição do acúmulo de líquidos. Esses achados indicam que efeito anti-inflamatório agudo do OEAt no modelo de edema de orelha com xileno pode ocorrer através do bloqueio de fosfolipase A2, redução da permeabilidade vascular e vasodilatação (Xavier-Santos et al, 2022)

A dexametasona é um glicocorticóide amplamente utilizado no controle de diversas doenças inflamatórias. Este medicamento reduz a resposta pró-inflamatória ao ácido araquidônico através da inibição inespecífica das vias de sinalização da inflamação, mas em tratamentos de longo prazo pode causar reações adversas como miopatia, retenção de líquidos e osteoporose (Marahatha et al. 2021).

Os OEs, em contraste com os glicocorticóides, atuam reduzindo os níveis de mediadores inflamatórios. Seu potencial mecanismo de ação envolve a inibição da enzima fosfolipase A2. Notavelmente, muitos OEs não demonstram quaisquer efeitos adversos no tratamento oral prolongado, tornando-o uma alternativa mais segura. A presença de classes de terpenóides na composição química do OEAt aumenta ainda mais o seu perfil de segurança, uma vez que muitos medicamentos desenvolvidos a partir de produtos naturais são considerados mais seguros para tratamentos sistêmicos prolongados (Sibi e Rabina 2016).

Além disso, os OEs fazem parte de opções terapêuticas interessantes em caso de doenças respiratórias, distúrbios reumáticos, doenças inflamatórias, queixas gastrointestinais, bem como doenças do sono e mentais. No entanto, a diversidade estrutural, bem como o caráter multicomponente dos OEs levaram a um elevado número de alvos fisiológicos e à usabilidade em diferentes áreas de indicação. Além disso, a seleção do óleo essencial certo, a sua dosagem, método de aplicação e integração na rotina diária é correspondentemente complexa (Bunse et al. 2022). Assim, mais estudos são necessários para avaliar a segurança do OEAt na saúde humana.

Outros medicamentos importantes utilizados para o tratamento de doenças inflamatórias e alívio da dor são os AINEs e os opioides, respectivamente. Os AINEs muitas vezes induzem danos indesejáveis devido ao seu mecanismo de ação, que consiste na inibição da enzima ciclooxigenase-1 (COX-1), presente na maioria dos tecidos, responsável pela síntese de prostaglandinas essenciais para a manutenção da homeostase (Dey et al. 2022). Entre as desvantagens mais comuns dos AINEs estão o desenvolvimento de úlceras gastroduodenais e alterações hepáticas e renais (Bindu et al. 2020).

Por outro lado, os opioides, que possuem a mesma via de ação do OEAt, reduzem os estímulos nociceptivos para regiões do cérebro e da medula espinhal originados de receptores

pré e pós-sinápticos. Dois efeitos adversos desses medicamentos podem ser destacados, como hiperalgesia e tolerância analgésica induzida (Mercadante et al. 2019).

6. CONCLUSÕES

O óleo essencial de *Ayapana triplinervis*, rico em 2,5-dimetoxi-*p*-cimeno, apresentou potencial antinociceptivo significativo para dor central e periférica e eficácia na redução do edema de orelha induzido por xileno. Essas ações foram melhor observadas na dose de 25 mg/kg, com resultados semelhantes aos dos medicamentos padrão indometacina e morfina. Além disso, demonstrou baixa toxicidade na determinação do DL 50 em exposição aguda, confirmando a relativa segurança da administração oral de OEAt.

Além disso, sabe-se que a composição química do óleo essencial pode ser variável devido a diversos fatores (influências bióticas e abióticas), que podem modificar a bioatividade do OE. Portanto, mais estudos são necessários para avaliar essa influência no OEAt. Portanto, este estudo comprova as atividades etnofarmacológicas desta espécie na medicina tradicional.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, M.J.; BERMEJO, P. Baccharis (Compositae): a review uptade. **Arkivoc**, v.7, p.76-96,2007.
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Carol Stream, Illinois, EUA: Allured Publishing Corporation, 2007.
- ARCHER, J. (1979). Behavioural aspects of fear. In W. Sluckin (Ed.). Fear in animals and man (pp. 56-85). New York: Van Nostrand Reinhold.
- AGUIAR, D. P., et al. **Prevalência de dor crônica no Brasil: revisão sistemática**. BrJP, v. 3, pág. 257–267, jul. 2021.
- ANDERSEN, M. E. et al. Dose–response modeling in reproductive toxicology in the systems biology era. **Reproductive toxicology** (Elmsford, N.Y.), v. 19, n. 3, p. 327–337, 2005.
- ANDRADE, M. A. et al Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, abr-jun, 2012.
- ASHOKKUMAR, K. et al. Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) essential oil: A review on its composition, biological, and pharmacological activities. **Phytotherapy research: PTR**, v. 36, n. 7, p. 2839–2851, 2022.
- AZIZ, Z. A. A. et al. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. **Current Drug Metabolism**, v. 19, n. 13, p. 1100–1110, 2018.
- BAI, X. et al. Antinociceptive activity of doliroside B. **Pharmaceutical biology**, v. 61, n. 1, p. 201–212, 2023.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. **Biological effects of essential oils - A review**. Food and Chemical Toxicology, v. 46, 2008, p. 446 - 475.
- BARROS, L. DE S. P. et al. Chemometric analysis of the seasonal variation in the essential oil composition and antioxidant activity of a new geraniol chemotype of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson from the Brazilian Amazon. **Biochemical systematics and ecology**, v. 105, n. 104503, p. 104503, 2022.
- BARBOSA A.G.R, et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effect of *Hyptis martiusii* BENTH leaves essential oil. **Biotechnol Rep (Amst)**. 2022;35(e00756):e00756. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00756>.
- BHATTACHARYYA, M. et al. Ayapana triplinervis: An updated review of traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities. **Pharmacological Research - Natural Products**, v. 1, n. 100002, p. 100002, 2023.
- BESSADA, S. M. F.; BARREIRA, J. C. M.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 76, n, 15, p. 604-615, 2015.

BENEDEK, B.; KOPP, B.; MELZIG, M.F. Achillea millefolium L. s.l.- Is the antiinflammatory activity mediated by protease inhibition? **Journal of Ethnopharmacology**, v.113, p.321-7,2007.

BENNY, A, E THOMAS, J. Óleos essenciais como estratégia de tratamento para a doença de Alzheimer: perspectivas atuais e futuras. **Planta Med.** (2019) 85:239–48. doi: 10.1055/A-0758-0188.

BHELLUM, B. L. Asteraceae in Jammu and Kashmir Himalaya: A Floristic Account. Em *Topics in Biodiversity and Conservation*, 607–20. Singapore: Springer Singapore. 2020.

BIALECKI, A. G.; MARODON, C. Essential oil of *Ayapana triplinervis* from Reunion Island: A good natural source of thymohydroquinone dimethyl ether. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36 n.853–858, 2008.

BINDU, S.; MAZUMDER, S.; BANDYOPADHYAY, U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. **Biochemical Pharmacology**. Volume 180, 114147. 2020.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; RESENDE C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim. Nova**, Vol. 32, No. 3, p. 595-622, 2009.

BOUKHATEM, M. N. et al. In vitro antifungal and topical anti-inflammatory properties of essential oil from wild-growing *Thymus vulgaris* (Lamiaceae) used for medicinal purposes in Algeria: A new source of carvacrol. **Scientia pharmaceutica**, v. 88, n. 3, p. 33, 2020.

CANCELLI, R. R.; EVALDT, A. C. P.; BAUERMAN, S. G.; SOUZA, P. A.; BORDIGNON S. A. L.; N. I. MATZENBACHER. **Catálogo palinológico de táxons da família Asteraceae Martinov, no Rio Grande do Sul, Brasil**. Sér. Bot., Porto Alegre, v. 65, n. 2, p. 201-280, dezembro de 2010.

CANCELLI, R. R.; EVALDT, A. C. P.; BAUERMAN, S. G.; **Contribuição à Morfologia Polínica da Família Asteraceae Martinov. No Rio Grande do Sul**. Pesquisas, Botânica N°58: 347-374 São Leopoldo : Instituto Anchieta de Pesquisas, 2007.

CHECKOURI, E. et al. Evaluation of polyphenol content and antioxidant capacity of aqueous extracts from eight medicinal plants from Reunion Island: Protection against oxidative stress in red blood cells and preadipocytes. **Antioxidants (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 10, p. 959, 2020.

CHEN, L. et al. Respostas inflamatórias e doenças associadas à inflamação em órgãos. **Oncotarget** , v. 9, n. 6, pág. 7204, 2018.

CHINDO, B. A. et al. Evaluation of the anti-nociceptive profile of essential oil from *Melissa officinalis* L. (lemon balm) in acute and chronic pain models. **Journal of ethnopharmacology**, v. 321, n. 117500, p. 117500, 2024.

CHOI, C. H. et al. Roles of opioid receptor subtype in the spinal antinociception of selective cyclooxygenase 2 inhibitor. **The Korean journal of pain**, v. 23, n. 4, p. 236–241, 2010.

COSTA, W. K., et al. Oral administration of essential oil from *Psidium glaziovianum* Kiaersk leaves alleviates pain and inflammation in mice. **Inflammopharmacology**. 2022 Apr; 30 (2):599-607.

COUTO, V. M. et al. Antinociceptive effect of extract of *Emilia sonchifolia* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, n. 2, p. 348–353, 24 mar. 2011.

CONEGUNDES. J.L.M., et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of *Siparuna guianensis* Aublet, an amazonian plant traditionally used by indigenous communities. **J. Ethnopharmacol.**, v. 265, a. 113344. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113344>

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. 1984.

COSTA-SILVA, J.H. et al. Acute and subacute toxicity of the *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae) seed oil. **J. Ethnopharmacol.** 116, 495–500, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.12.016>.

DA FONSECA, A. et al. PA-Int5: Isatin-thiosemicarbazone derivative that has antinociceptive and anti-inflammatory effects in Swiss mice. **Biomedical reports**, vol. 15, no. 1, 2021.

DE LIMA, M. N. N. et al. Chemical composition and antinociceptive and anti-inflammatory activity of the essential oil of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. from the Brazilian Amazon. **Journal of ethnopharmacology**, v. 300, n. 115720, p. 115720, 2023.

DENKOVA-KOSTOVA, R. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon* L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences*, v. 76, n. 5–6, p. 175–185, 2021.

DENKOVA-KOSTOVA, R. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon* L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences*, v. 76, n. 5–6, p. 175–185, 2021.

DENG, J., HAN, J., CHEN, J., ZHANG, Y., HUANG, Q., WANG, Y, et al. Comparison of analgenic activities of aconitine in different mice pain models. **Plos One**. 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249276>.

DE MORAIS, M. C. G. et al. A elucidação acerca dos Mecanismos de Nocicepção e Dor / The elucidation about mechanisms of Nociception and Pain. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 8, p. 84364–84377, 2021.

DOS SANTOS, D. A. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 543–550, fev. 2010.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, v. 4, n. Supp C, p. 161–174, 1977.

FAQUETI L. G. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of standardized extract of polymethoxyflavones from *Ageratum conyzoides*. **J. Ethnopharmacol.** 2016 Dec 24;194:369-377. doi: 10.1016/j.jep.2016.09.025.

FERREIRA, E. A. et al. *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) Root Extract and Its Triterpene *Baccharis Oxide* Display Topical Anti-Inflammatory Effects on Different Mice Ear Edema Models. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM**, v. 2023, p. 9923941, 25 maio 2023.

FERNEZELIAN, D. et al. *Ayapana triplinervis* Vahl: Potential toxicity and therapeutic effects assessed in a zebrafish model. **Phytomedicine plus: international journal of phytotherapy and phytopharmacology**, v. 3, n. 1, p. 100384, 2023.

FARRAR, A. J.; FARRAR, F. C. Clinical Aromatherapy. **Nursing Clinics of North America**, v. 55, n. 4, p. 489–504, 1 dez. 2020.

FERRARI, S. E. N. **Efeito da estimulação elétrica e química do córtex motor primário na modulação da dor neuropática crônica por meio do envolvimento da substância cinzenta periaquedutal.** [s.l.] Universidade de Sao Paulo, Agência USP de Gestão da Informação Acadêmica (AGUIA), 2020.

FIGUEIREDO, P. L. B.; CARNEIRO, J. DA S. **Óleos essenciais e aromas de espécies com valor econômico da Amazônia Paraense.** Belém: Editora Dalcídio Jurandir, 2022.

FINNERUP, N. B.; KUNER, R.; JENSEN, T. S. Neuropathic pain: From mechanisms to treatment. **Physiological reviews**, v. 101, n. 1, p. 259–301, 2021.

GÁBOR, M. Models of acute inflammation in the ear. Em: **Inflammation Protocols.** New Jersey: Humana Press, 2003. p. 129–138.

GAUVIN-BIALECKI, A.; MARODON, C. Essential oil of *Ayapana triplinervis* from Reunion Island: A good natural source of thymohydroquinone dimethyl ether. **Biochemical systematics and ecology**, v. 36, n. 11, p. 853–858, 2008.

GONZÁLEZ-VELASCO, H. E. et al. Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activities of the Essential Oil of *Tagetes parryi* A. Gray (Asteraceae) and *Verbenone*. **Molecules**, v. 27, n. 9, p. 2612–2612, 19 abr. 2022.

GUIMARÃES, L. G. DE L. et al. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf). **Quimica nova**, v. 31, n. 6, p. 1476–1480, 2008.

GROSSI, M. A.; BARRETO, J. N. V. *Ayapana* in **Flora e Funga do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB117086>>. Acesso em:

01 nov. 2023.

GUO, B. et al. Elucidation of the anti-inflammatory mechanism of Er Miao San by integrative approach of network pharmacology and experimental verification. **Pharmacological research: the official journal of the Italian Pharmacological Society**, v. 175, n. 106000, p. 106000, 2022.

HADDAD, J. G. et al. Ayapana triplinervis Essential Oil and Its Main Component Thymohydroquinone Dimethyl Ether Inhibit Zika Virus at Doses Devoid of Toxicity in Zebrafish. **Molecules**, v. 24, n. 19, p. 3447, 2019.

HALL, A. P. et al. Liver hypertrophy: A review of adaptive (adverse and non-adverse) changes-conclusions from the 3rd international ESTP expert workshop. **Toxicologic pathology**, v. 40, n. 7, p. 971–994, 2012.

HAJHASHEMI, V.; GHANNADI, A.; SHARIF, B. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, 2003, p. 67-71.

HUNSKAAR S, BERGE OG, HOLE K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **J. Neurosci. Meth.**, v. 14, p. 69-76, 1985.

HUSSAIN, A. Potential Medicinal Uses of Plants from the Asteraceae (Compositae) Family in Pakistan: A Literature Review Based Meta-Analysis. **Journal of Herbal Medicine** 45 (100871): 100871. 2024.

IBRAHIM, B. et al. Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of *Cyathula prostrata* (Linn.) Blume (Amaranthaceae). **J. Ethnopharmacol.** 141, p. 282–289, 2012.

ISCAN, G. et al. Biological activity and composition of the essential oil of *Achillea schischkinii* Sosn. and *Achillea aleppica* DC. sbsp. *aleppica* **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.170-3,2006.

JEON, H.J. et al. Antiinflammatory activity of *Taraxacum officinale* **Journal of Ethnopharmacology**, v.115, p.82-8,2008.

JIN, W. Y.; et al. Antinociceptive effects of galanin in the central nucleus of amygdala of rats, an involvement of opioid receptors. **Brain Research**, v.1320, p. 16-21, 2010.

JONES, P. et al. Oral non-steroidal anti-inflammatory drugs versus other oral analgesic agents for acute soft tissue injury. **Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd**, 15 abr. 2009.

JUTEAU, F. et al. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. **Elsevier Science. Fitoterapia.** 73, 532–535, 2002.

KARPIŃSKI, T. M. Essential oils of Lamiaceae family plants as antifungals. **Biomolecules**, v. 10, n. 1, p. 103, 2020.

KHAN, A.; KHAN, S.; KIM, Y. S. Insight into pain modulation: Nociceptors sensitization and therapeutic targets. **Current drug targets**, v. 20, n. 7, p. 775–788, 2019.

- LEE, G. I.; NEUMEISTER, M. W. Pain. **Clinics in plastic surgery**, v. 47, n. 2, p. 173–180, 2020.
- LI, Q. et al. The anti-inflammatory effect of *Sonchus oleraceus* aqueous extract on lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 cells and mice. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 799–809, 1 jan. 2017.
- LOPES, L.S. et al. Mechanisms of the antinociceptive action of (-) Epicatechin obtained from the hydroalcoholic fraction of *Combretum leprosum* Mart & Eic in rodents. **Journal of Biomedical Science**, v. 19, p.68-74, 2012.
- LOPES, T. R. M. et al. Antimicrobial bioassay-guided fractionation of a methanol extract of *Eupatorium triplinerve*. **Pharm. Biol.** 2015, 53, 897–903.
- LOPES, D. M. et al. A refinement to the formalin test in mice. **F1000Research**, v. 8, p. 891, 2019.
- MALPEZZI-MARINHO, E. L. A., et al. Effects of hydroalcoholic extract of *Solidago chilensis* Meyen on nociception and hypernociception in rodents. **Complementary and alternative medicine BMC**, v.1, 2019.
- MAIA, J. G. S.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A. **Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais**. Museu Paraense Emílio Goeldi. Belém-Pará. Coleção Adolpho Ducke. 173 p. 2001.
- MAITY, R. et al. Gastroprotective effect of hydromethanolic extract of *Ayapana triplinervis* leaves on indomethacin-induced gastric ulcer in male Wistar rats. **Journal of food biochemistry**, v. 45, n. 8, 2021.
- MELO, A. S. et al. Antinociceptive, neurobehavioral and antioxidant effects of *Eupatorium triplinerve* Vahl on rats. **J. Ethnopharmacol.** 2013, 147, 293–301.
- MILLS, S. E. E.; NICOLSON, K. P.; SMITH, B. H. Chronic pain: a review of its epidemiology and associated factors in population-based studies. **British journal of anaesthesia**, v. 123, n. 2, p. e273–e283, 2019.
- MONDELLO, L. **FFNSC 2: Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds**, Mass Spectral Database. John Wiley & Sons Inc, 2011.
- MORAES, C. S. P. et al. **Traditional, Phytochemical and Biological Studies of Ayapana triplinervis (Vahl) R.M. King & H. Robinson: State of art**. Research, Society and Development, [S. l.], v. 11, n. 6, p. e6411628648, 2022.
- MCCARBERG, B.; PEPPIN, J. Pain Pathways and Nervous System Plasticity: Learning and Memory in Pain. **Pain Medicine (United States)**, v. 20, n. 12, p. 2421– 2437, 1 dez. 2019.
- NAKHAEE, S. et al. N-acetylcysteine dose-dependently improves the analgesic effect of acetaminophen on the rat hot plate test. **BMC Pharmacology and Toxicology**, v. 22, n. 1, 2021.

National Institute of Standards and Technology (NIST). **Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH)**. v. 2. Gaithersburg: The NIST Mass Spectrometry Data Center, 2011.

Nazzaro, F.; Fratianni, F.; Coppola, R.; Feo, V.D. Essential Oils and Antifungal Activity. **Pharmaceuticals** 2017, 10, 86. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>.

NERY, M. I. S. **Caracterização morfoanatômica do eixo vegetativo aéreo de ayapana triplinervis (vahl) r. M. King & h. Rob. (asteraceae): planta medicinal da amazônia, pará, brasil**. 2011. 81 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural da Amazônia. Belém.

OLIVEIRA, R. K. B.; SARMENTO, A. M. M. F. O Uso dos Óleos Essenciais de Gerânio e Junípero no Rejuvenescimento Facial. **Revista Diálogos em Saúde**, v. 2, p. 38-52, 2021.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT STAFF. **Education at a glance: OECD indicators 2002**. Paris: OECD, 2002.

OZCAN, S. et al. Asprosin, a novel therapeutic candidate for painful neuropathy: an experimental study in mice. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 395, n. 3, p. 325–335, 2022.

PACHECO, A. G. M. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Hymenaea martiana* Hayne (Fabaceae) in mice. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, 2022.

PAIXÃO, V. L. B.; CARVALHO, J. F. Essential oil therapy in rheumatic diseases: A systematic review. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 43, p. 101391, 2021.

PAJARES, M. et al. **Inflammation in Parkinson's disease: Mechanisms and therapeutic implications**. *Cells* (Basel, Switzerland), v. 9, n. 7, p. 1687, 2020.

PARK, Y.-M. et al. Anti-inflammatory and Anti-nociceptive Effects of the Methanol Extract of *Fomes fomentarius*. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 27, n. 10, p. 1588–1593, 2004.

PITON, J. V. **Compostos Voláteis em Lúpulo (*Humulus lupulus*) Cultivado em Curitiba/Sc**. Curso De Agronomia. Universidade Federal De Santa Catarina. Santa Catarina. p.28, 2022.

PORTILLO, A. et al. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v.76, p.93-8,2001.

RAJA, S. N. et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, v. 161, n. 9, p. 1976–1982, 2020.

RAMSEY, J. T. et al. Essential Oils and Health. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 93, n. 2, p. 291–305, 29 jun. 2020

RAMSEY, J.T. et al. Óleos essenciais e saúde. *Yale J. Biol. Med.* 93, 291–305.

RIBEIRO, A.O.; SILVA, A.F.; CASTRO, A.H.F. Identificação de espécies da família Asteraceae, revisão sobre usos e triagem fitoquímica do gênero *Eremanthus* da Reserva

Boqueirão, Ingaí-MG. • **Rev. bras. plantas med.** 12 (4), Dez 2010. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722010000400009>.

RIBEIRO, V. P. et al. Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. **Pharmaceutical Biology**, v.56, n. 1, p. 253-268, 2018.

RIGHI, N. et al. Phenolic profile, safety assessment, and anti-inflammatory activity of *Salvia verbenaca* L. **Journal of ethnopharmacology**, v. 272, n. 113940, p. 113940, 2021.

RODRIGUES, A. B. L. et al. Development of nano-emulsions based on *Ayapana triplinervis* essential oil for the control of *Aedes aegypti* larvae. **PloS one**, v. 16, n. 7, p.0254225, 2021.

RODRIGUES, A. B. L. et al. Ethnopharmacological use, secondary metabolites and biological activity of *Ayapana triplinervis* (VAHL) R. m. king and H. rob.: A systematic review. **Pharmacognosy reviews**, v. 16, n. 32, p. 70–73, 2022.

RODRIGUES, A. B. L. et al. In silico and in vivo study of adulticidal activity from *Ayapana triplinervis* essential oils nano-emulsion against *Aedes aegypti*. **Arabian journal of chemistry**, v. 15, n. 9, p. 104033, 2022b.

ROQUE et al., **Asteraceae in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB55>>. Acesso em: 01 nov. 2023.

SALAZAR-GÓMEZ, A. et al. Antinociceptive activity of the ethanolic extract of *Trixis angustifolia* DC. **Natural Product Research**, v. 36, n. 22, p. 5813–5816, 28 dez. 2021.

SAMOISY, A. K.; MAHOMOODALLY, F. Ethnopharmacological appraisal of culturally important medicinal plants and polyherbal formulas used against communicable diseases in Rodrigues Island. **J. Ethnopharmacol.** 2016, 194, 803–818.

SAMOISY, A. K.; MAHOMOODALLY, M. F. Ethnopharmacological analysis of medicinal plants used against non-communicable diseases in Rodrigues Island, Indian Ocean. **J. Ethnopharmacol.** 2015, 173, 20–38.

SATTAYAKHOM, A.; WICHIT, S.; KOOMHIN, P. The Effects of Essential Oils on the Nervous System: A Scoping Review. **Molecules**, v. 28, n. 9, p. 3771–3771, 27 abr. 2023.

SINGSAI, K. et al. **Antilipoxygenase and anti-inflammatory activities of *Streblus asper* leaf extract on xylene-induced ear edema in mice**. *Advances in pharmacological and pharmaceutical sciences*, v. 2020, p. 3176391, 2020.

SOUZA, R. V. et al. **Potencial antifúngico de constituintes de óleos essenciais**. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 12, p. e457101220537, 2021.

SU, R. C. et al. Harmful Algal Bloom Toxicity in *Lithobates catesbeiana* Tadpoles. **Toxins**, v. 12, n. 6, p. 378, 2020.

TAIWE, G. S. et al. Evaluation of antinociceptive effects of *Crassocephalum bauchiense* Hutch (Asteraceae) leaf extract in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, n. 1, p. 234–241, 7 maio 2012.

TURNES, B. L. **Papel do metabolismo da tetraidrobiopterina na fisiopatologia da dor inflamatória**. 2019.

TROPICOS. **Missouri Botanical Garden**, 2020. Disponível em: <http://www.tropicos.org/>. Acesso em: 31 out. 2023.

VAN DEN DOOL, H; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas–liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963

VERSTER, J. C. et al. A comparison of the antinociceptive properties of SJP-005 and morphine in rats. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 2, p. 243, 2021.

VINCENT, M. J. et al. **Ethylene oxide: Cancer evidence integration and dose–response implications. Dose-response**: a publication of International Hormesis Society, v. 17, n. 4, p. 155932581988831, 2019.

WANG, S. et al. Toxicity and toxicokinetics of the ethanol extract of Zuojin formula. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 22, n. 1, 2022.

WU, G.; ZHANG, W.; LI, H. Application of metabolomics for unveiling the therapeutic role of traditional Chinese medicine in metabolic diseases. **Journal of ethnopharmacology**, v. 242, n. 112057, p. 112057, 2019.

XAVIER-SANTOS, J. B. et al. Topical gel containing phenolic-rich extract from *Ipomoea pes-capre* leaf (Convolvulaceae) has anti-inflammatory, wound healing, and antiophidic properties. **Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 149, n. 112921, p. 112921, 2022.

YANG, L. et al. **A universal delayed difference model fitting dose-response curves. Dose-response**: a publication of International Hormesis Society, v. 19, n. 4, p. 155932582110627, 2021

YOUNIS M. et al. Evaluation of anti-inflammatory and analgesic effects of *Hertia intermedia* (Boiss.) Kuntze extract. **Pak J Pharm Sci**.35:1281-1286, 2022.

ZHANG, G. et al. Nuclear phylogenomics of Asteraceae with increased sampling provides new insights into convergent morphological and molecular evolution. **Plant communications**, v. 5, n. 6, p. 100851, 2024.

ZHANG, W. R.; PARIKH, C. R. Biomarkers of acute and chronic kidney disease. **Annual review of physiology**, v. 81, n. 1, p. 309–333, 2019.

ZHANG, N.; YAO, L. Anxiolytic Effect of Essential Oils and Their Constituents: A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 13 jun. 2019.

ZHENG, C.-J. et al. Antinociceptive activities of the liposoluble fraction from *Vitex negundo* seeds. **Pharmaceutical biology**, v. 48, n. 6, p. 651–658, 2010.

ZHOU, H. Y. et al. Anti-inflammatory activity of 21(α , β)-methylmelianodiols, novel compounds from *Poncirus trifoliata* Rafinesque. **European journal of pharmacology**, v. 572, n. 2–3, p. 239–248, 2007.

8. COMPROVATE DE PUBLICAÇÃO DO ARTIGO CIENTÍFICO

Inflammopharmacology
<https://doi.org/10.1007/s10787-024-01533-9>

Inflammopharmacology

ORIGINAL ARTICLE



Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Ayapana triplinervis* essential oil rich in thymohydroquinone dimethyl ether from Brazil

Luana de Sousa P. Barros^{1,2} · Ellen Nayara Silva de Jesus^{1,2} · Maria Juliana da L. Froz^{1,2} · Renata Cunha Silva³ · Pedro Iuri C. da Silva³ · Anderson B. de Lima³ · Jofre Jacob S. Freitas³ · Rosa Helena V. Mourão⁴ · William N. Setzer⁵ · Joyce Kelly R. da Silva⁶ · José Nazareno C. Negrão³ · Pablo Luis B. Figueiredo^{1,2}

Received: 22 April 2024 / Accepted: 9 July 2024
 © The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Switzerland AG 2024

Abstract

Ayapana triplinervis (M.Vahl) R.M.King & H.Rob. (Asteraceae), popularly known as japana, is a tropical, aromatic subshrub widely used as tea to combat some diseases. The essential oil was obtained from the leaves by hydrodistillation (3 h), and the chemical composition was analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. For in vivo assays, *Mus musculus*/Swiss mice were used to evaluate oral acute toxicological (at dose of 2000 mg/kg); peripheral and central analgesic for abdominal contortion (doses of 6.25, 12.5, 25, 50 and 100 mg/kg), hot plate test (12.5, 25, 50, and 100 mg/kg) and formalin (25, 50 and 100 mg/kg); open field test (100 mg/kg); and anti-inflammatory by ear swelling induced by xylene (6.25, 12.5, 25, 50, and 100 mg/kg). The yield of *A. triplinervis* essential oil (AtEO) was 4.6%, and the oxygenated monoterpene 2,5-dimethoxy-*p*-cymene was the major compound in this study (63.6%). AtEO at a dose of 2,000 mg/kg orally did not change the behavior patterns or mortality of the animals; liver and kidney biochemical levels were similar to the control group, indicating no liver and kidney toxicity. Moreover, AtEO, at doses of 6.25, 12.5, 25, 50, and 100 mg/kg, reduced abdominal contortions by 21%, 54%, 91%, 58%, and 55%, respectively. In the hot plate test, AtEO showed a significant increase in latency time in the 60-min interval at doses of 25 mg/kg (11.3 ± 3.3 s) and 100 mg/kg (11.9 ± 0.9 s). In the first phase of the formalin test, AtEO decreased paw licking time at doses of 25, 50, and 100 mg/kg, with inhibition of 22%, 38%, and 83%; in the second phase, the same doses, decreased licking time with inhibition of 24%, 34%, and 76%. AtEO did not present a significant change in the spontaneous locomotor activity of the animals. Doses of 6.25, 12.5, 25, 50, and 100 mg/kg significantly reduced ear edema induced by topical application of xylene with percentages of 40%, 39%, 54%, 45%, and 45%, respectively. So, AtEO demonstrated low acute oral toxicity and exhibited significant antinociceptive and anti-inflammatory actions, consistent with the use of *A. triplinervis* in traditional medicine.

✉ Pablo Luis B. Figueiredo
 pablo.figueiredo@uepa.br

- ¹ Programa de Pós-Graduação Em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal Do Pará, Belém 66075-110, Brazil
- ² Laboratório de Química Dos Produtos Naturais, Universidade Do Estado Do Pará, Belém 66095-015, Brazil
- ³ Laboratório de Morfofisiologia Aplicada a Saúde, Universidade Do Estado Do Pará, Belém 66087-670, Brazil
- ⁴ Laboratório de Bioprospecção E Biologia Experimental, Universidade Federal Do Oeste Do Pará, Santarém 68035-110, Brazil
- ⁵ Aromatic Plant Research Center, 230 N 1200 E, Suite 100, Lehi, UT 84043, USA
- ⁶ Programa de Pós-Graduação Em Biotecnologia, Universidade Federal Do Pará, Belém 66075-900, Brazil

Published online: 22 July 2024

Springer

APÊNDICE A



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO PARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
COMISSÃO DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS

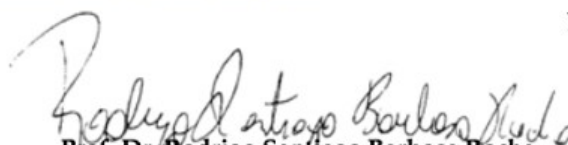
ANEXO III

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Ayapana triplinervis* (ASTERACEAE)**", registrada com o nº 06/2023, sob a responsabilidade de PABLO LUÍS BAÍA FIGUEIREDO - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE DO ESTADO DO PARÁ, em reunião de 01 / 03 / 2023.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	12/2022 à 12/2023
Espécie/linhagem/raça	<i>Camundongo isogênico / Mus musculus / Swiss</i>
Nº de animais	194
Peso/Idade	30-40g / 30 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério do Instituto Evandro Chagas

Belém, 17 de abril de 2023.


Prof. Dr. Rodrigo Santiago Barbosa Rocha
Coord. do CEUA/CCBS/UEPA

APÉNDICE B



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº ADFC9F5

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **ADFC9F5**
 Usuário: **UEPA**
 CPF/CNPJ: **34.860.833/0001-44**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Ayapana triplinervis

Título da Atividade: **COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE Ayapana triplinervis (ASTERACEAE)**

Equipe

pablo luis baia figueiredo	UEPA
Luana de Sousa Peixoto Barros	UFPA

Data do Cadastro: **28/08/2023 17:37:28**
 Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **17:38 de 28/08/2023**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**