



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

PAULO VINICIUS LIMA SANTOS

**VARIAÇÃO SAZONAL DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Aloysia ob lanceolata Moldenke E SUAS ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-
INFLAMATÓRIA**

BELÉM - PA

2025

PAULO VINICIUS LIMA SANTOS

**VARIAÇÃO SAZONAL DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Aloysia ob lanceolata Moldenke E SUAS ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-
INFLAMATÓRIA**

Documento de Defesa apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal do Pará
como requisito final para obtenção do título de
Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Pablo Luis Baia
Figueiredo.

BELÉM - PA

2025

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)

S237v Santos, Paulo Vinicius Lima.
Variação sazonal da composição química do óleo essencial de
Aloysia oblongeolata Moldenke e suas atividades antinociceptiva e
anti-inflamatória / Paulo Vinicius Lima Santos, . — 2025.
70 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, 2025.

1. Verbenaceae. 2. Potencial farmacológico. 3.
Monoterpenos e Sesquiterpenos. I. Título.

CDD 615.1900724

PAULO VINICIUS LIMA SANTOS

**VARIAÇÃO SAZONAL DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Aloysia ob lanceolata Moldenke E SUAS ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-
INFLAMATÓRIA**

Documento de Defesa apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal do Pará
como requisito final para obtenção do título de
Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Pablo Luis Baia
Figueiredo.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pablo Luis Baia Figueiredo

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – UFPA - Orientador

Profa. Dra. Joyce Kelly do Rosário da Silva

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Bioquímica - UFPA - Membro externo

Prof. Dr. Bruno Gonçalves Pinheiro

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - UFPA-Membro externo

AGRADECIMENTOS

À Deus, por todas as realizações pessoais e profissionais que vem proporcionado em minha vida e por guiar meus caminhos através do seu amor e bondade. À Comunidade Católica Shalom a Fraternidade São João Paulo II, pelos direcionamentos espirituais através do acompanhamento pessoal e por ter dado a experiência com o amor de Deus e me dado um grupo de oração (São Pedro) que hoje chamo de família pois me acolheu, me ensinou que viver o tempo e o sonho de Deus em nossas vidas vale muito.

À Universidade Federal do Pará e a Universidade do Estado do Pará pela estrutura física. Ao Museu Paraense Emílio Goeldi, ao Herbário Dra. Marlene Freitas da Silva e a Embrapa Amazônia Oriental pela identificação botânica. À Universidade Federal do Oeste do Pará pelo suporte nas análises químicas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por financiar esta pesquisa através do Pró-Amazônia. À CAPES, à FAPESPA e à UFPA pelo apoio por meio do Programa de Parcerias Estratégicas nos Estados III (PDPG), tanto pelo financiamento deste trabalho quanto pelo suporte concedido ao longo do período de realização do mestrado.

Aos meus pais, Paulo Ivan da Costa Santos e Claene do Socorro Carvalho Lima, por sempre acreditarem nos meus sonhos e objetivos, pelo incentivo, apoio e forças dadas a todo momento. Ao meu irmão Paulo Gabriel Lima Santos e minha namorada e Deriane Pereira da Silva, pelo apoio e por sempre está comigo em todos os momentos da minha vida. Aos demais familiares e amigos que servem de suporte para mim.

Ao meu orientador Dr. Pablo Figueiredo por ter me aceitado como seu aluno, pelos seus ensinamentos, desde o período da graduação, foram e são pilares para minha formação acadêmica e profissional e por toda motivação para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Laboratório de Química dos Produtos Naturais e aos meus colegas de laboratório, por sua colaboração no desenvolvimento do trabalho e companhia na rotina diária de laboratório em especial a Lucas Botelho, Nancy Norat, Jamile Costa e Gabrielly Baia que foram grandes amigos e parceiros de laboratório que de suas maneiras me ajudaram no desenvolvimento desde trabalho e aguentaram minhas crises de ansiedade no momento mais difícil da minha vida.

Ao Laboratório de Morfologia pela colaboração no desenvolvimento do trabalho e por grandes amigos que ganhei que foram comigo até o final desde trabalho em especial ao Prof. Pedro Iuri, ao Edgar Chaves, a Verônica Reis, além de colegas de laboratório foram grandes amigos que ganhei no mestrado.

Ao Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Comportamento, pela ajuda no desenvolvimento do projeto de inflamação em especial ao Prof. Dr. Éneas Fontes, a Profª. Dra. Cristiane Maia pelos ensinamentos repassados, e pelas amizades adquiridas que foram importantes para o desenvolvimento desde trabalho a Natália Harumi Kobayashi, a Larrisa Reis, Maria Carolina Raiol, e Eloise Cardoso.

Enfim, agradeço a todos que participaram da minha caminhada e tornaram possível minha formação e realização de um sonho, que em vários momentos difíceis sempre tive suporte de amigos para não deixarem que eu desistisse. Muito obrigado esse sonho não foi sonhado sozinho!

Shalom!

‘Todo tempo é tempo de acreditar que as pessoas
vão se renovar.’

São João Paulo II

‘O sofrimento é breve, a recompensa é eterna.’

São Padre Pio de Pietrelcina

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema experimental para avaliação dos efeitos do óleo essencial de <i>Aloysia oblangceolata</i> (OEAO) em camundongos.	23
Figura 2. Esquema do protocolo experimental utilizado para avaliar a atividade anti-inflamatória do óleo essencial de <i>Aloysia oblangceolata</i> (OEAO) no modelo de peritonite induzida por carragenina.....	27
Figura 3. Relação entre parâmetros climáticos e produção de óleo de <i>Aloysia oblangceolata</i> durante o estudo sazonal.....	28
Figura 4. Variação do rendimento (%) do óleo essencial de <i>Aloysia oblangceolata</i> Moldenke entre os períodos seco e chuvoso.....	29
Figura 5. Correlação entre rendimento, principais componentes e classes de compostos do óleo de <i>Aloysia oblangceolata</i> e fatores climáticos.....	30
Figura 6. Estruturas químicas e variação sazonal dos principais constituintes do óleo essencial de <i>Aloysia oblangceolata</i> Moldenke.	31
Figura 7. Análise hierárquica de cluster dos principais constituintes do óleo essencial de <i>Aloysia oblangceolata</i>	35
Figura 8. Análise hierárquica de cluster dos principais constituintes do óleo essencial de <i>Aloysia oblangceolata</i>	36
Figura 9. Análise dos desvios-padrão dos três grupos de <i>Aloysia oblangceolata</i> no estudo sazonal. Média $\pm$ desvio-padrão.....	37
Figura 10. Mapa de calor de agrupamento com os constituintes dos óleos essenciais de amostras de <i>Aloysia oblangceolata</i>	38
Figura 11. Efeitos do tratamento com o óleo essencial de <i>Aloysia oblangceolata</i> sobre o estresse oxidativo.....	40
Figura 12. Efeitos antinociceptivos de OEAO no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	42

Figura 13. Efeitos antinociceptivos de OEAO no teste de imersão de cauda.....	43
Figura 14. Efeito analgésico central e periférico do OEAO no teste da formalina em camundongos.....	44
Figura 15. Efeito do OEAO na atividade locomotora de camundongos na distância total percorrida.....	45
Figura 16. Avaliação dos mecanismos de ação envolvidas no efeito antinociceptivo do óleo essencial de <i>Aloysia obloceolata</i>	48
Figura 17. Efeito do OEAO no teste de peritonite induzida por carragenina.....	59
Figura 18. Efeitos do tratamento com o óleo essencial de <i>Aloysia oblonceolata</i> sobre a concentração de nitrito no líquido peritoneal de ratos.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Registro de espécime incorporada no herbário.....	20
Tabela 2. Rendimentos e composição química dos óleos essenciais das folhas de <i>Aloysia ob lanceolata</i> relativos ao estudo sazonal.....	32
Tabela 3. Peso relativo dos principais órgãos de camundongos tratados com óleo e controle grupo.....	38
Tabela 4. Parâmetros bioquímicos de camundongos tratados com óleo de <i>Aloysia ob lanceolata</i> e grupo controle.....	39

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato transaminase
ALP	Fosfatase alcalina
GC-FID	Cromatografia gasosa-detector de ionização em chamas do inglês (Gas chromatography-flame ionization detector)
GC-MS	Cromatografia gasosa-espectrometria de massas do inglês (Gas chromatography-mass spectrometry)
EIMS	Espectrometria de massa de ionização eletrônica do inglês (Electron ionization mass spectrometry)
HCA	Análise Hierárquica de Agrupamento
HM	Hidrocarbonetos monoterpênicos
HS	Hidrocarbonetos sesquiterpênicos
IEC	Instituto Evandro Chagas
IR _(C)	Índice de retenção calculado
IR _(L)	Índice de retenção da literatura
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
MO	Monoterpenos oxigenados
OEAO	Óleo essencial de <i>Aloysia ob lanceolata</i>
OEs	Óleos essenciais
PCA	Análise dos Componentes principais
RPM	Rotação por minuto
Sisgen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SO	Sesquiterpenos oxigenados
SAIDs	Anti-inflamatórios esteroides
TGO	Transaminase Oxalacética
TGP	Transaminase Pirúvica

SUMÁRIO

1	OBJETIVOS	15
1.1	GERAL	15
1.2	ESPECÍFICOS	15
	RESUMO	16
	ABSTRACT	17
2	INTRODUÇÃO	18
3	MATERIAL E METODOS	20
3.1.	Material Vegetal e Dados Climáticos	20
3.2.	Extração de óleo essencial	20
3.3.	Análise da composição do óleo essencial	21
3.4.	Declaração ética e Doses do óleo essencial	22
3.5.	Toxicidade oral aguda	22
3.6.	Marcadores de estresse oxidativo	23
3.6.1.	Preparação das amostras	23
3.6.2.	Mensuração da peroxidação lipídica	23
3.6.3.	Indicador da Formação de Oxido Nítrico (NO)	24
3.6.4.	Análise enzimática - Catalase (CAT)	24
3.7.	Análise da atividade atinociceptiva	25
3.7.1.	Efeito analgésico periférico no teste de contorção abdominal	25
3.7.2.	Teste de imersão da cauda	25
3.7.3.	<i>Teste de formalina</i>	25
4.1.	Efeito da sazonalidade na produção de óleo	28
4.2.	Efeito sazonal na composição do óleo de <i>Aloysia ob lanceolata</i>	30
4.3.	Análise multivariada do óleo essencial de <i>Aloysia ob lanceolata</i>	34
4.4.	Efeitos da toxicidade oral aguda	38
	Tabela 4. Parâmetros bioquímicos de camundongos tratados com óleo de <i>Aloysia ob lanceolata</i> e grupo controle	39
4.5.	Efeitos analgésico periférico do OEAO no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético	41
5	CONCLUSÃO	52
6	REFERENCIAS	53
	ANEXOS I	66

ANEXOS II67

ANEXOS III.....68

ANEXOS IV.....69

1 OBJETIVOS

1.1 GERAL

Avaliar a influência dos fatores climáticos sobre o rendimento e a composição química do óleo essencial de *Aloysia oblangolata Moldenke*, e avaliar as propriedades antinociceptivas e anti-inflamatórias.

1.2 ESPECÍFICOS

- Determinar o rendimento do óleo essencial de *Aloysia oblangolata* em diferentes períodos seco e chuvoso, correlacionando com variáveis climáticas (temperatura, precipitação, umidade relativa do ar).
- Avaliar a atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial em modelos experimentais *in vivo*.
- Avaliar o efeito do estresse oxidativo sobre o óleo essencial.

VARIAÇÃO SAZONAL DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aloysia oblangolata* Moldenke E SUAS ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA

RESUMO

Aloysia oblangolata Moldenke (Verbenaceae) é uma planta nativa da América do Sul, utilizada na medicina tradicional por suas propriedades antibacterianas, fungicidas, larvicidas e anti-inflamatórias. Este estudo avaliou a variação sazonal da composição química do óleo essencial (OE) extraído das folhas de *A. oblangolata* na região amazônica, bem como suas atividades antinociceptiva e anti-inflamatória. As coletas foram realizadas mensalmente, entre novembro de 2022 e outubro de 2023, no município de Garrafão do Norte (PA). Os óleos foram extraídos por hidrodestilação e analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Foram identificados 38 constituintes, com predominância de *trans*-pinocanfona, β -pineno, *E*-cariofileno e *trans*-acetato de pinocarveila. Observou-se influência direta de fatores climáticos sobre o rendimento (média de 4,35%) e sobre a composição química do óleo, especialmente nas classes de monoterpenos e sesquiterpenos. A análise multivariada revelou a formação de três grupos distintos: o grupo I, com 52,65% de similaridade; o grupo II, com 36,82%; e o grupo III, com 34,68%. O teste de toxicidade oral aguda demonstrou que o OE possui baixa toxicidade, sem alterações comportamentais ou bioquímicas relevantes em camundongos. A atividade antinociceptiva foi confirmada nos testes de contorções abdominais e de formalina. No teste de formalina, o óleo não apresentou efeito significativo na primeira fase (neurogênica), mas demonstrou eficácia na segunda fase (inflamatória), nas doses de 50 e 100 mg/kg. A ação anti-inflamatória foi evidenciada no modelo de peritonite induzida por carragenina, com redução significativa na migração de neutrófilos. Os resultados indicam que o óleo essencial de *A. oblangolata* possui perfil químico com uma fácil padronização, é seguro e apresenta potencial farmacológico promissor, especialmente como agente anti-inflamatório e antinociceptivo. Além disso, a espécie demonstra viabilidade para padronização em escala industrial, destacando-se como alternativa sustentável para o desenvolvimento de fitoterápicos e valorização da biodiversidade amazônica.

Palavras-chave: Verbenaceae; Potencial farmacológico; Monoterpenos e Sesquiterpenos.

ABSTRACT

Aloysia ob lanceolata Moldenke (Verbenaceae) is a plant native to South America, traditionally used for its antibacterial, fungicidal, larvicidal, and anti-inflammatory properties. This study evaluated the seasonal variation in the chemical composition of the essential oil (EO) extracted from *A. ob lanceolata* leaves in the Amazon region, as well as its antinociceptive and anti-inflammatory activities. Leaves were collected monthly between November 2022 and October 2023 in the municipality of Garrafão do Norte (PA, Brazil). The oils were extracted by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). A total of 38 constituents were identified, with predominance of *trans*-pinocamphone, β -pinene, *E*-caryophyllene, and *trans*-pinocarvyl acetate. Climatic factors directly influenced the yield (average of 4.35%) and chemical composition of the oil, especially in the monoterpene and sesquiterpene classes. Multivariate analysis revealed the formation of three distinct groups: Group I with 52.65% similarity, Group II with 36.82%, and Group III with 34.68%. The acute oral toxicity test showed that the EO is of low toxicity, with no relevant behavioral or biochemical changes in mice. The antinociceptive activity was confirmed in the abdominal writhing and formalin tests. In the formalin test, the EO showed no significant effect in the first (neurogenic) phase but was effective in the second (inflammatory) phase at doses of 50 and 100 mg/kg. The anti-inflammatory activity was demonstrated in the carrageenan-induced peritonitis model, with a significant reduction in neutrophil migration. The results indicate that *A. ob lanceolata* essential oil has a chemically modifiable profile, is safe, and exhibits promising pharmacological potential, especially as an anti-inflammatory and antinociceptive agent. Furthermore, the species demonstrates feasibility for industrial-scale standardization, standing out as a sustainable alternative for the development of herbal medicines and the valorization of Amazonian biodiversity.

Keywords: Verbenaceae; Pharmacological potential; Monoterpenes and Sesquiterpenes.

2 INTRODUÇÃO

Verbenaceae J.St.-Hil. é constituída por espécies arbóreas, arbustivas e herbáceas, abrangendo aproximadamente 35 gêneros e cerca de 1.200 espécies, com ampla distribuição na América do Sul. Essas plantas são predominantemente floríferas e são encontradas principalmente em regiões tropicais em todo o mundo (PÉREZ ZAMORA; TORRES; NUÑEZ, 2018; RAHMATULLAH et al., 2011). Determinadas espécies pertencentes a essa família são usadas na medicina tradicional devido à presença de compostos bioativos e suas propriedades medicinais, incluindo ação antioxidante e anti-inflamatória (MOHAMMADHOSSEINI; FREZZA; VENDITTI, 2022).

Espécies de plantas aromáticas são utilizadas na medicina tradicional devido à presença de compostos bioativos e às suas propriedades medicinais (MOHAMMADHOSSEINI; FREZZA; VENDITTI, 2022; ZENI et al., 2011). O gênero *Aloysia* (Verbenaceae) é encontrado no Brasil. Este gênero é originário da América do Sul, especialmente da Argentina, Bolívia, Brasil e Chile. Essas regiões são conhecidas por abrigar a maior diversidade de espécies de *Aloysia*, com 28 espécies e 6 variedades, das quais 12 são encontradas no Brasil (BENOVIT et al., 2015; MOHAMMADHOSSEINI; FREZZA; VENDITTI, 2022).

Aloysia ob lanceolata Moldenke possui sinônimos heterotípicos conhecidos na literatura que são *Aloysia gratissima* var. *oblanceolata* Moldenke e *Aloysia beckii* Moldenke (MORONI; O'LEARY; FILLOY, 2016). Popularmente conhecida como Alfazema e Vassourinha Doce, é uma espécie de planta arbustiva com folhas fasciculadas dispostas opostamente ao longo dos ramos, produzindo inflorescências brancas compostas por flores agrupadas na mesma estrutura (O'LEARY et al., 2016). Esta espécie é nativa da América do Sul, ocorrendo no Paraguai, Bolívia e Brasil. No Brasil, *A. oblanceolata* ocorre principalmente nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná (MARX et al., 2010). E seus óleos essenciais e extratos são conhecidos por possui atividade nematicida, fungicida, efeito antidepressivo, atividades neuroprotetoras, efeitos antinociceptivos e anti-inflamatório (SANTOS et al., 2013; SOUZA et al., 2021).

Na medicina tradicional, a *A. oblanceolata* é utilizada por suas propriedades sedativas, com atividade no sistema nervoso central (BENOVIT et al., 2015; GRESSLER et al., 2014). Seu óleo essencial tem recebido grande atenção devido às suas propriedades antibacterianas, antifúngicas e antimicóticas (SOUZA; WIEST, 2007). Há um interesse científico significativo na pesquisa de compostos derivados de plantas associados ao conhecimento da medicina popular.

A descoberta de novos medicamentos anti-inflamatórios e antinociceptivos, mais seguros é constantemente necessária, a busca por medicamentos alternativos capazes de

interromper o processo inflamatório e antinociceptivo tornou-se uma questão importante na pesquisa científica, especialmente na referência ao uso de substâncias naturais e à redução de efeitos colaterais indesejáveis (ALMEIDA, 2001). Nesse contexto, os óleos essenciais representam uma importante fonte de substâncias naturais, visto que seus constituintes ativos frequentemente apresentam diversas propriedades farmacológicas (DE CÁSSIA DA SILVEIRA E SÁ et al., 2014). Além disso, os produtos naturais são ativos contra microrganismos, como fungos, vírus e bactérias, responsáveis por diversas doenças infecciosas (ALIJAR SOUZA et al., 2022; UD-DAULA et al., 2016).

A composição química do óleo essencial extraídos de plantas possui um papel biológico evidenciado por seus efeitos terapêuticos, como atividade antioxidante, antiparasitária, antimicrobiana, citotóxica e atividade anti-inflamatória, devido que seus constituintes, são geralmente formados por monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides e apresentam um caráter lipofílico e baixo peso molecular, com propriedades que possibilitam atravessar membranas celulares com uma maior facilidade (SHARIFI-RAD et al., 2017).

Diversos fatores ambientais podem impactar significativamente o perfil químico dos óleos essenciais produzidos pelas plantas, visto que essas substâncias são influenciadas principalmente por condições externas ao organismo vegetal. Entre os aspectos mais relevantes que contribuem para essa variabilidade estão a incidência de radiação solar, que afeta diretamente os processos fotossintéticos e, conseqüentemente, a síntese de metabólitos secundários; os níveis de precipitação, que regulam a disponibilidade hídrica e o equilíbrio osmótico; e as variações de temperatura e pressão, que podem interferir nos processos responsáveis pela biossíntese de compostos voláteis (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; JERÔNIMO et al., 2024a).

Essas complexas interações entre fatores bióticos e abióticos ressaltam a importância da compreensão da dinâmica ambiental e regional no estudo da produção e da qualidade de óleos essenciais. Diante dessa perspectiva, este estudo teve como objetivo analisar a variação sazonal na composição química do óleo essencial de *Aloysia oblongeolata*.

3 MATERIAL E METODOS

3.1. Material Vegetal e Dados Climáticos

As folhas (60g) de *Aloysia ob lanceolata* foram coletados na cidade de Garrafão do Norte, estado do Pará, Brasil (coordenadas: 1°56'22,7382"S/47°3'3,17772W). As folhas maduras para o estudo sazonal foram coletadas no dia 03, às 9h, de novembro de 2022 a outubro de 2023. A identificação foi realizada por comparação com um espécime autêntico de *Aloysia ob lanceolata*. As exsicatas (MG246092) foi incorporada ao Herbário “João Murça Pires”, do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, Brasil, outra amostra do espécime (MFS10607) foi incorporada ao Herbário “Dra. Marlene Freitas da Silva, Universidade do Estado do Pará, Belém, Pará, Brasil e uma amostra foi (IAN202959) foi incorporado ao Herbário da Embrapa Amazônia Oriental, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Belém, Pará, Brasil. O espécime foi coletado de acordo com as leis brasileiras relativas à proteção de biodiversidade (Sisgen ACA3523).

Tabela 1. Registro de espécime incorporada no herbário.

Nome científico	Herbário	Instituição	Código
<i>Aloysia ob lanceolata</i>	João Murça Pires	Museu Paraense Emílio Goeldi	MG246092
<i>Aloysia ob lanceolata</i>	Dra. Marlene Freitas da Silva	Universidade do Estado do Pará	MFS10607
<i>Aloysia ob lanceolata</i>	Embrapa Amazônia Oriental	Embrapa Amazônia Oriental	IAN202959

Os parâmetros climáticos (insolação, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica) foram obtidos mensalmente no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, <http://www.inmet.gov.br/portal>), do Governo Brasileiro (INMET, 2023). Os dados meteorológicos foram registrados através da estação meteorológica localizada em Belém - PA, que fica a 169,99 km de distância em linha reta do município de coleta, a estação é equipada com um sistema Vaisala, modelo MAWS 301 (Vaisala Corporation, Helsinque, Finlândia).

3.2. Extração de óleo essencial

As folhas foram submetidas à secagem em ambiente climatizado a 16 °C por um período de sete dias. Posteriormente, o material foi triturado com o auxílio de um homogeneizador tipo mixer. As folhas (60 g) foram submetidas à hidrodestilação (em duplicata) utilizando um aparelho tipo Clevenger aparelho (3 h), o sistema de condensação a temperatura era de 10–15 °C. Os óleos essenciais obtidos foram centrifugados durante 5 min a 3000 rpm e desidratado em sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) nas mesmas condições em uma centrífuga (MAIA;

ANDRADE, 2009). Os pesos secos foram usados para calcular os rendimentos de óleo (em triplicata). Os rendimentos de óleos essenciais foram expressos em porcentagem e calculados a partir da biomassa livre de umidade (HFB) através da relação entre volume de óleo, massa amostral da planta e umidade. Os óleos foram armazenados em frascos escuros para posterior análise cromatográfica (JERÔNIMO et al., 2024b). A umidade residual das amostras foi determinada usando um medidor de umidade testador (Gehaka®), modelo IV 2000, por secagem infravermelha em paralelo a extração.

3.3. Análise da composição do óleo essencial

Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) associada a cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização de chama (CG/DIC) foram utilizadas para analisar a composição dos óleos essenciais de *A. oblanceolata*. Foi utilizado um instrumento ultra Shimadzu Modelo QP 2010 (Shimadzu, Tóquio, Japão) equipado com coluna capilar de sílica fundida Rtx-5MS (30 m, 0,25 mm; espessura de filme de 0,25 μ m) como fase estacionária (Restek, Bellefonte, PA, EUA). O gás hélio foi ajustado a 1,0 mL/min a 57,5 kPa como gás de arraste. A injeção das amostras de óleo no instrumento foi do tipo split (proporção 1:20) de 1 μ L de solução de n-hexano (5 μ L de óleo: 500 μ L de n-hexano); as temperaturas do injetor e da interface foram de 250 °C; A temperatura programada do forno foi de 60 a 240 °C (3 °C/min), seguida de isoterma de 10 min. Espectrometria de massa de ionização eletrônica (EIMS) a 70 eV, a temperatura da fonte de íons foi de 200 °C.

Os espectros de massa foram obtidos por varredura automática, com massa de fragmentos na faixa de 35–400 m/z. A comparação dos espectros de massa e índices de retenção apresentados pelas amostras utilizando as semelhanças entre os espectros de massa e índices de retenção apresentados nas bibliotecas comerciais FFNSC-2 (MONDELLO, 2011) e Adams (ADAMS, 2007). Os índices de retenção dos constituintes voláteis foram calculados utilizando a equação linear de Van Den Dool e Kratz (1963), utilizando uma série homóloga de hidrocarbonetos (C8–C40, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) sob as mesmas condições cromatográficas. A análise CG/DIC foi realizada em um instrumento Shimadzu QP-2010 (Shimadzu, Tóquio, Japão) equipado com um detector DIC sob as mesmas condições descritas acima, exceto que o hidrogênio foi usado como gás de arraste. A composição percentual da amostra de óleo foi calculada a partir das áreas dos picos do CG/DIC. As análises foram realizadas em triplicata.

3.4. Declaração ética e Doses do óleo essencial

O projeto de pesquisa foi submetido à aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Estado do Pará (UEPA) sob o número 03–2023 e 07/2023. Nesta pesquisa, foram utilizados 194 camundongos heterogênicos, *Mus musculus* da linhagem *Swiss*, machos, adultos (aproximadamente 30 dias de idade), pesando entre 30 e 40 g e 100 ratos heterogênicos, *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, provenientes do Biotério do Instituto Evandro Chagas (IEC). As doses selecionadas de Óleo Essencial de *Aloysia oblangolata* (OEAO) foram baseadas no trabalho de Costa et al. (2022). Assim, doses de 25, 50 e 100 mg/kg por via oral foram adotadas.

3.5. Toxicidade oral aguda

A toxicidade oral aguda foi avaliada de acordo com as diretrizes 423 da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2002). Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos. O primeiro grupo foi tratado com água destilada e o segundo grupo foi tratado com óleo essencial de *Aloysia oblangolata* (OEAO) na dose de 300 e 2000 mg/kg com o veículo Tween 80 a 1%. Os tratamentos foram realizados por gavagem (10 mL/kg). Após os tratamentos, os animais foram observados durante 2 horas e depois uma vez ao dia durante 14 dias consecutivos. Nesse período foram observadas alterações comportamentais e fisiológicas (estado de alerta, atividade motora espontânea, locomoção, apatia, resposta ao toque, estereotipia, agressividade, ataxia, sudorese, micção, diarreia, convulsões e morte). No 15º dia, os animais foram submetidos à eutanásia (cetamina 300 mg/kg e xilazina 30 mg/kg) (DOS SANTOS SOUZA et al., 2021) (Figura 1a).

As análises foram realizadas no equipamento Autoanalyzer Olympus AU 400 (Hamburgo, Alemanha) (COSTA-SILVA et al., 2008). O sangue foi coletado por via intracardiaca para avaliação da atividade renal (creatina e ureia) e hepática utilizando as enzimas alanina aminotransferase (ALT-PGP), aspartato transaminase (AST-TGO) e fosfatase alcalina (ALP) (Figura 1b).

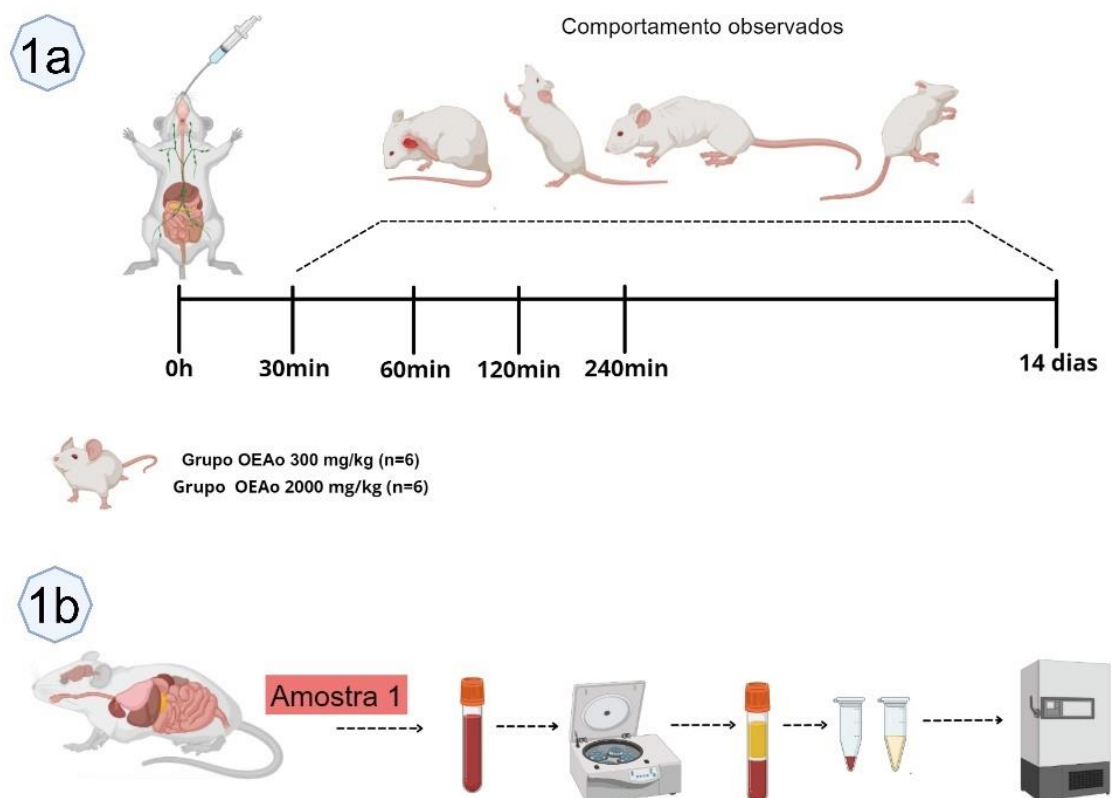


Figura 1. Esquema experimental para avaliação dos efeitos do óleo essencial de *Aloysia oblaneolata* (OEAO) em camundongos. (1a) Administração oral de OEAO nas doses de 300 mg/kg e 2000 mg/kg (n = 6 por grupo) seguida de observação comportamental em diferentes tempos (30, 60, 120, 240 minutos e até 14 dias) para avaliação de toxicidade aguda e possíveis alterações comportamentais. (1b) Coleta de amostras após o período experimental: Amostra 1 corresponde ao sangue para análises bioquímicas

3.6. Marcadores de estresse oxidativo

3.6.1. Preparação das amostras

Os órgãos (Fígado e Rim) do tratamento nas doses de 300 e 2000 mg/kg, foram pesados em balança analítica e homogeneizados (p/v) na proporção de 1:10 em salina a 0,9%. O homogeneizado foi centrifugado a 3500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi aliqotado em microtubos de polipropileno do tipo Eppendorfs® e mantido em freezer -80 °C até o dia das análises bioquímica para estresse oxidativo: concentração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS); Catalase (CAT).

3.6.2. Mensuração da peroxidação lipídica

Para se determinar a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), os produtos resultantes da peroxidação lipídica, foram utilizados o método de Winterbourn, modificados para análise em espectrofotometria (VIANA BARBOSA et al., 2023; WINTERBOURN; GUTTERIDGE; HALLIWELL, 1985). O método baseia-se na

alteração da coloração da amostra (plasma) quando ela é colocada para reagir com o ácido tiobarbitúrico a 1 % na temperatura de 90 a 100 °C e em meio ácido. Em tubos de propileno (PP) de 1,5 ml, serão colocados 10 µL de butil-hidroxi-tolueno (BHT) (solução etanólica a 2 %), 200 µL de ácido clorídrico (HCl) 25%, 200 µL de solução de ácido tiobarbitúrico (1%) dissolvido em solução aquosa de NaOH a 0,05N e 200 µL de amostra. O branco será feito com todas as soluções colocando-se, no lugar da amostra, solução salina 0,9%. Posteriormente, os tubos contendo a mistura foram incubados em banho fervente (100 °C) durante 15 minutos e resfriados em banho de gelo. Em seguida, adiciona-se 618 µL de butanol em cada tubo e agitados em vórtex até que houvesse a transferência total da coloração rósea da camada inferior para a superior. A mistura foi centrifugada por 5 minutos a 12000 rpm até que a fase do butanol (sobrenadante) torne-se límpida. Foram retirados 600 µl de sobrenadante, e as amostras distribuídas em duplicata em cubetas. A placa foi introduzida em um espectrofotômetro, para medir a absorbância ao comprimento de onda de 532 nm. A amplificação da peroxidação durante o ensaio foi prevenida pela adição de um antioxidante (BHT). A concentração de TBARs foi determinada utilizando-se o coeficiente de extinção molar do MDA ($\epsilon = 1,56 \times 10^{-5} \cdot \text{Ml} \cdot \text{mL}^{-1}$) (VIANA BARBOSA et al., 2023).

3.6.3. Indicador da Formação de Óxido Nítrico (NO)

A produção de A produção de NO foi avaliada espectrofotometricamente por meio do metabólito estável nitrito. Para mensurar o conteúdo de nitrito, as amostras foram incubadas com o reagente de Griess (1% de sulfanilamida e 0,1% de N-1 (naftil) etilenodiamina) à temperatura ambiente por 10 minutos, e a absorbância foi medida a 540 nm. O conteúdo de nitrito foi calculado com base em uma curva padrão, variando de 0 a 100 nM, construída com nitrito de sódio (NaNO_2). Os resultados foram expressos em µmol de nitrito por mg de proteína (GREEN et al., 1982).

3.6.4. Análise enzimática - Catalase (CAT)

A atividade da enzima catalase, quantifica a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio, em 240 nm durante 20s, pela enzima presente na amostra. Utiliza-se a solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 10 mM em tampão fosfato mM pH 7,0 preparada e titulada no dia da análise (AEBI, 1984; VIANA BARBOSA et al., 2023). Para isso, foi adicionado 2 mL desta solução na cubeta, com acréscimo de 20µL da amostra, em seguida, foi feita a leitura da queda da absorbância. Os valores foram expressos em $\text{mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mL}$.

3.7. Análise da atividade atinociceptiva

3.7.1. Efeito analgésico periférico no teste de contorção abdominal

O ensaio de contorção abdominal induzida por ácido acético foi utilizado para avaliar o potencial analgésico periférico (CONEGUNDES et al., 2021; KOSTER, R., ANDERSON, M. DE BEER, 1959). Os camundongos foram divididos aleatoriamente em cinco grupos de seis camundongos: grupo controle (tratado com tween a 1,0%, v.o.), três grupos de tratamento (doses de OEAO de 25, 50 e 100 mg/kg, v.o.) e um grupo de controle positivo (5 mg/kg de indometacina, p.o.). Sessenta minutos após o tratamento, os camundongos foram submetidos a (0,6%, v/v em tween, 10 mL/kg) de ácido acético (CH_3COOH) a 0,6% i.p. Após a administração do ácido acético, os animais foram confinados por 30 min e os números de contorções foram registradas. O efeito analgésico foi avaliado com base na redução do número de contorções abdominais (DE LIMA et al., 2023).

3.7.2. Teste de imersão da cauda

O teste de imersão da cauda avalia a atividade analgésica central submergindo a cauda dos animais em altas temperaturas. Este teste avalia o(s) tempo(s) de latência, definido como o período para o animal retirar cauda. No teste, os animais foram submetidos a um pré-teste, sendo excluídos aqueles com valores de latência superiores a 5 segundos. Os animais selecionados foram separados em grupos (n=6) que foram tratados com veículo (Tween 80 a 1% diluído em solução salina estéril, v.o.), morfina administrada na dose de 5 mg/kg (i.p.) ou EOAO nas doses de 25, 50 e 100 mg. /kg (p.o.). Posteriormente, 1/3 (aproximadamente 2 cm) da cauda dos animais foi submersa no líquido com temperatura fixa de $55 \pm 0,5$ °C, e a resposta completa de retirada da cauda foi avaliada nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos (GAMMOH et al., 2023; HAMURA et al., 2000).

3.7.3. Teste de formalina

O teste de contorção abdominais foi conduzido de acordo com método de Zapata-Morales et al., (2017). Para avaliar o envolvimento do sistema opioide no mecanismo de ação antinociceptiva do óleo essencial de *Aloysia oblongeolata*, grupos de camundongos (n=5) foram pré-tratados com naloxona (5 mg/kg) que é antagonista de receptores do sistema opioide; glibenclamida (5 mg/kg, um bloqueador do canal de potássio modulado por ATP; Ondansetrona, antagonista 5-HT₃ (0,5 mg/kg, i.p.); haloperidol (0,2 mg/kg, i.p.), um antagonista não-seletivo dos receptores dopaminérgicos; ioimbina (1 mg/kg; i.p.), um antagonista α -adrenérgico; teofilina (5 mg/kg, i.p.), um antagonista de adenosina. 15 minutos

após as administrações, os animais foram tratados com o óleo essencial (100 mg/kg), agonista morfina (4 mg/kg) e veículo (solução de NaCl 0,9%) (SCAPINELLO et al., 2019). Sessenta minutos (óleo essencial e veículo) ou trinta minutos (morfina) após os tratamentos, os animais receberam injeção de ácido acético 0,6% (i.p.). As contorções abdominais foram registradas por 30 minutos (HESS et al., 2010; OBESE et al., 2021; WOODE et al., 2012).

3.8. *Campo Aberto*

Para descartar quaisquer efeitos sedativos ou relaxantes musculares inespecíficos do OEAO, atividade exploratória espontânea foi avaliada no teste de campo aberto conforme descrito anteriormente (ARCHER, 1973; KARL; PABST; VON HÖRSTEN, 2003). Os camundongos (n = 6) foram tratados com veículo (10 mL/kg) e OEAO (100 mg/kg) 1 h antes tratamento (DE JESUS et al., 2023). Foram colocados individualmente no centro da arena de campo aberto (100 x 100 x 40 cm) e foram autorizados a explorar o aparelho por 5 min. A atividade dos camundongos foi monitorada por vídeo por uma câmera posicionada acima da arena para ser analisada off-line com o software ANY-maze™ (Stoelting, EUA) por dois observadores cegos aos tratamentos a locomoção foi avaliada como a distância total percorrida (FERNANDES et al., 2018; KASTER et al., 2015).

3.9. *Atividade anti-inflamatório*

3.9.1. *Peritonite induzida por carragenina*

A inflamação e consequente o estresse oxidativo foi induzido na cavidade peritoneal pela administração de carragenina (0,3 mg/kg) (SOUZA; FERREIRA, 1985). Para isso, os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos (n = 6/grupo), que foram previamente tratados por cinco dias com solução salina (Grupos Branco e Carragenina), OEAO (25, 50 e 100 mg/kg) ou Indometacina (10 mg/kg). A carragenina foi administrada 1 hora após a última dose de pré-tratamento. Quatro horas depois, os animais foram eutanasiados sob anestesia (cetamina + xilazina; 91 + 9,1 mg/kg; ip.), após isso, foram injetados 5 mL de solução salina na cavidade peritoneal e o lavado foi coletado para avaliação do equilíbrio oxidativo e migração leucocitária. O sangue foram coletadas por punção cardíaca e depois centrifugadas (3500 RPM para 10 min) para separação do plasma, para avaliação do balanço oxidativo (CARDOSO et al., 2022). (Figura 2).

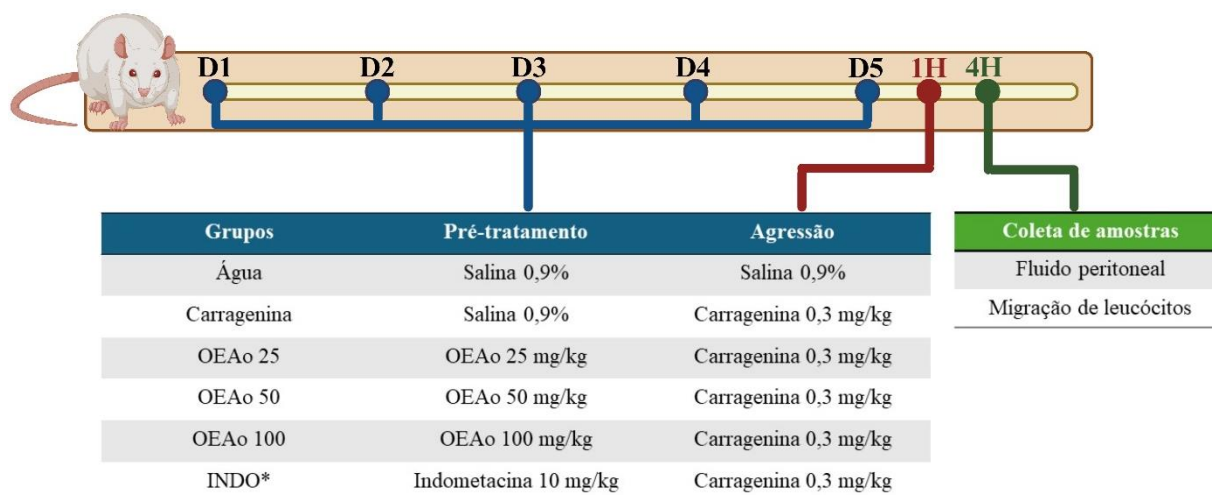


Figura 2. Esquema do protocolo experimental utilizado para avaliar a atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *Aloysia oblaneolata* (OEAO) no modelo de peritonite induzida por carragenina em camundongos. Os animais foram divididos em grupos experimentais e tratados por via oral durante cinco dias consecutivos (D1 a D5) com OEAO nas doses de 25, 50 ou 100 mg/kg, indometacina (10 mg/kg, grupo controle positivo) ou solução salina 0,9% (controle negativo). No quinto dia (D5), foi realizada a indução da inflamação por via intraperitoneal com carragenina a 0,3 mg/kg. Após 4 horas da administração da carragenina, foi realizada a coleta do fluido peritoneal para quantificação da migração de leucócitos, como parâmetro de resposta inflamatória.

3.10. Análise estatística da composição química e teste in vivo

A análise de componentes principais (PCA) foi aplicada aos componentes do óleo essencial das folhas de *Aloysia oblaneolata* (> 3,0%) (OriginPro/OriginLab 2024 Learning Edition Corporation, Northampton, MA, EUA e o Minitab Statistical Software 18). A análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) foi realizada considerando a distância euclidiana e a ligação de Ward (SANTOS et al., 2024). A significância estatística foi avaliada pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), e os coeficientes de correlação de Pearson (r) foram calculados para determinar a relação entre os parâmetros climáticos analisados (insolação, umidade relativa, temperatura e precipitação) utilizando o software GraphPad Prism versão 8.0 (GALVÃO et al., 2023).

As avaliações estatísticas dos dados experimentais in vivo foram realizadas utilizando o GraphPad Prism versão 8.0. Os dados são expressos como médias $\pm$ erros padrão. Foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para a verificação da normalidade. As diferenças estatisticamente relevantes foram determinadas usando o teste ANOVA, seguido pelo teste post hoc de Tukey. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas entre os grupos de tratamento quando $p < 0,05$ (DE JESUS et al., 2023).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Efeito da sazonalidade na produção de óleo

Fatores climáticos, como insolação, precipitação, temperatura e umidade relativa, foram monitorados no período de novembro de 2022 a outubro de 2023 para avaliar sua influência na produção e composição do óleo essencial de *Aloysia ob lanceolata*. Os valores de insolação variaram entre 88,2 (abril) e 289,5 h (setembro), a precipitação mensal de 32,7 (outubro) a 465,4 mm (abril), a temperatura de 26,7 °C (maço) a 35,8 °C (outubro), e o umidade relativa do ar de 75,4% (outubro) para 93,2% (março). O período seco na região onde a planta ocorre compreendeu os meses de novembro de 2022, julho a outubro de 2023 representado na figura 3 na cor vermelho, com média precipitação de $149,3 \pm 104,3$ mm, e o período chuvoso de dezembro de 2022 a junho de 2023 representado na figura 3 na cor azul, com média precipitação de $361,9 \pm 79,2$ mm.

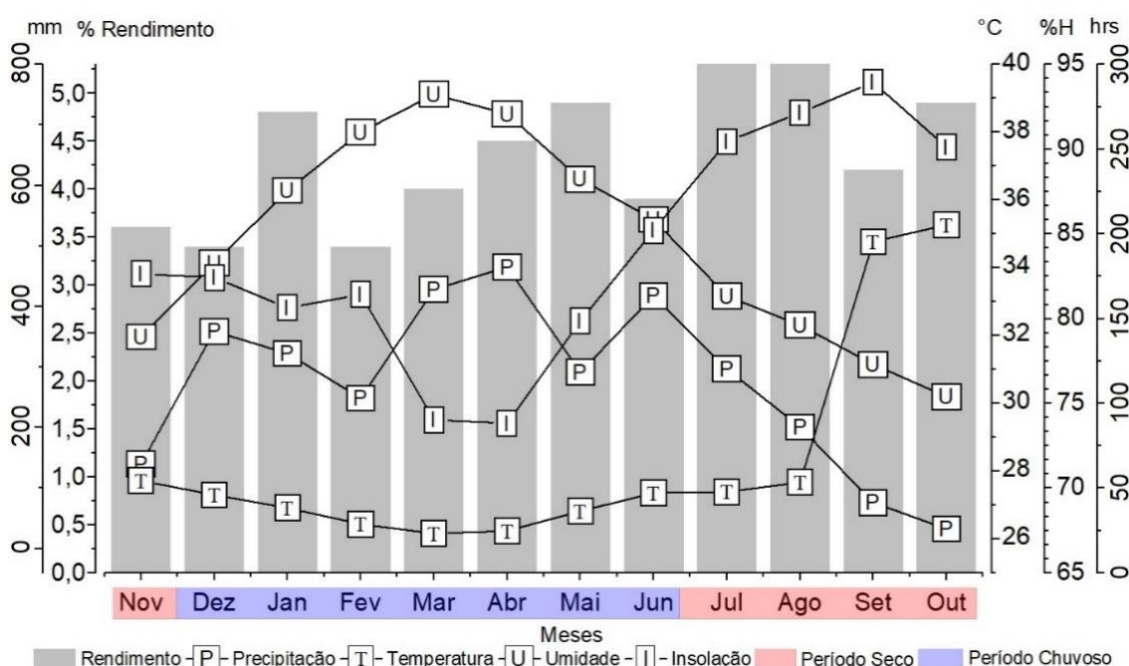


Figura 3. Relação entre parâmetros climáticos e produção de óleo de *Aloysia ob lanceolata* durante o estudo sazonal.

A Bacia Amazônica contém cerca de metade da floresta tropical da Terra e possui chuvas torrenciais e secas severas, variam tanto em escalas espaciais e temporais devido isso, a região amazônica é caracterizada por apenas duas estações: seca e chuvosa (DA SILVA et al., 2019; LEAN; WARRILOW, 1989; LOUREIRO et al., 2014). Com o clima úmido e quente, a Amazônia apresenta os maiores índices pluviométricos de dezembro a abril, período chuvoso, com os menores índices pluviométricos de junho a novembro no período seco, sendo os demais

meses considerados períodos de transição entre as estações, contudo, de um ano para outro, estas duas estações podem mudar dependendo dos fenômenos atmosféricos que afetam as regiões tropicais (DA COSTA et al., 2020; HALL et al., 1998). Em estudos que avaliaram o efeito da sazonalidade e do óleo essencial, os parâmetros climáticos obtidos em 2022 mostraram um clima atípico no ano estudado (BARROS et al., 2022a; SANTOS et al., 2023).

No estudo sazonal, os rendimentos de óleo essencial de *Aloysia ob lanceolata* Moldenke variaram de 3,4% (dezembro de 2022 e fevereiro 2023) a 5,3% (agosto e setembro de 2023), com média de $4,3 \pm 0,7\%$ no período estudado (Figura 1). O rendimento do óleo essencial não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) no período seco ($4,7 \pm 0,7\%$) e no período chuvoso ($4,1 \pm 0,6\%$) no teste T (Figura 4).

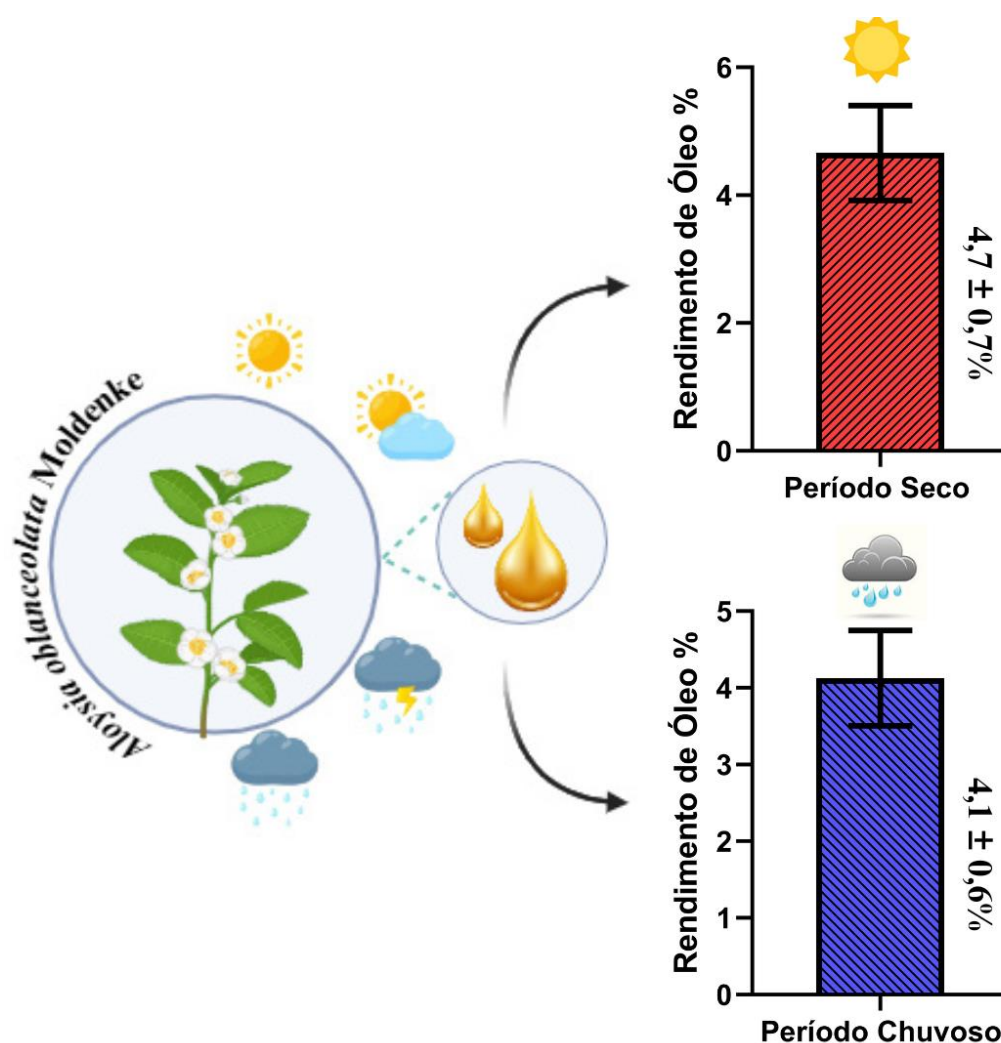


Figura 4. Variação do rendimento (%) do óleo essencial de *Aloysia oblanceolata* Moldenke entre os períodos seco e chuvoso. Observa-se maior rendimento durante o período seco (☀) em comparação ao período chuvoso (☁), com os valores expressos como média $\pm$ desvio padrão.

Em relação aos parâmetros climáticos com teor de óleo essencial, não foi observada correlação significativa com a temperatura, umidade, precipitação e com a insolação apresentou correlação positiva ($r = 0,36$) com o rendimento do óleo de *Aloysia ob lanceolata* menor que ($p > 0,05$) (figura. 5).

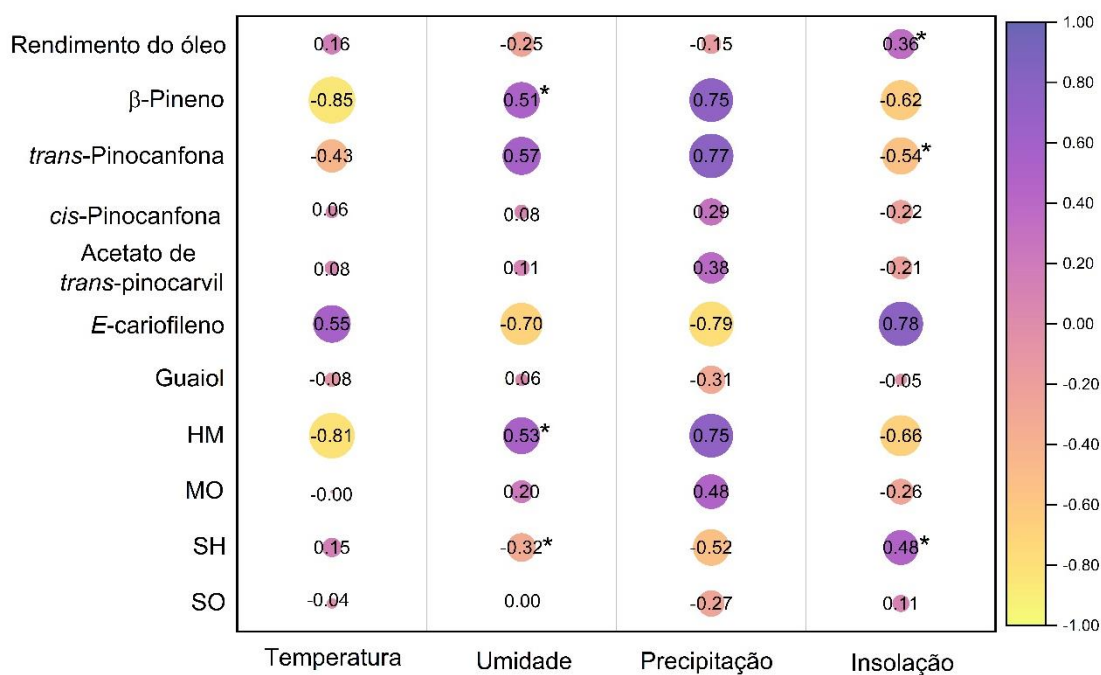


Figura 5. Correlação entre rendimento, principais componentes e classes de compostos do óleo de *Aloysia ob lanceolata* e fatores climáticos.

HM: Hidrocarbonetos monoterpênicos, MO: Monoterpenos oxigenados, HS: Hidrocarbonetos sesquiterpênicos, SO: Sesquiterpenos oxigenados. *Correlação significativa ($p < 0,05$).

O estudo que avaliou o efeito da sazonalidade no óleo essencial das folhas de *Lippia alba*, coletado no distrito de Outeiro, em Belém, Pará, Brasil, não apresentou diferença significativa no rendimento de óleos entre o período seco ($1,1 \pm 0,3\%$) e o chuvoso período ($1,7 \pm 0,5\%$) (BARROS et al., 2022b). Por outro lado, durante a avaliação da sazonalidade do óleo de *Aloysia triphylla*, cultivado e coletado no município Frederico Westphalen, Rio Grande do Sul, Brasil, apresentou o rendimento do óleo, diferentes percentuais durante as estações verão (0,42%), outono (0,31%), inverno (0,19%) e primavera (0,30%), onde a estação com menor precipitação apresentou o melhor rendimento durante o período estudado (PARODI et al., 2020).

4.2. Efeito sazonal na composição do óleo de *Aloysia ob lanceolata*

O óleo essencial de *A. ob lanceolata* apresentou trinta e oito (38) constituintes químicos, (Tabela 2). Esses constituintes compreendem 94,6-97,1% dos óleos analisados no estudo sazonal ao longo do período de doze meses. As classes de compostos predominantes nas

amostras de óleo foliar foram monoterpênicos oxigenados (33,2 a 48,1%), sesquiterpenos oxigenados (18,5 a 27,8%), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (19,0 a 27,3%) e hidrocarbonetos monoterpênicos (2,4 a 10,7%). Os principais constituintes identificados no óleo essencial das folhas durante o estudo sazonal foram *trans*-Pinocanfona (11,1 a 16,4%), Guaiol (10,8 a 14,2%), *trans*-Acetato de Pinocarvila (6,1 a 9,5%), *cis*-Pinocanfona (5,7 a 8,4%) e β -Pineno (0,9 a 5,8%). As estruturas dos constituintes são mostradas na Figura 6.

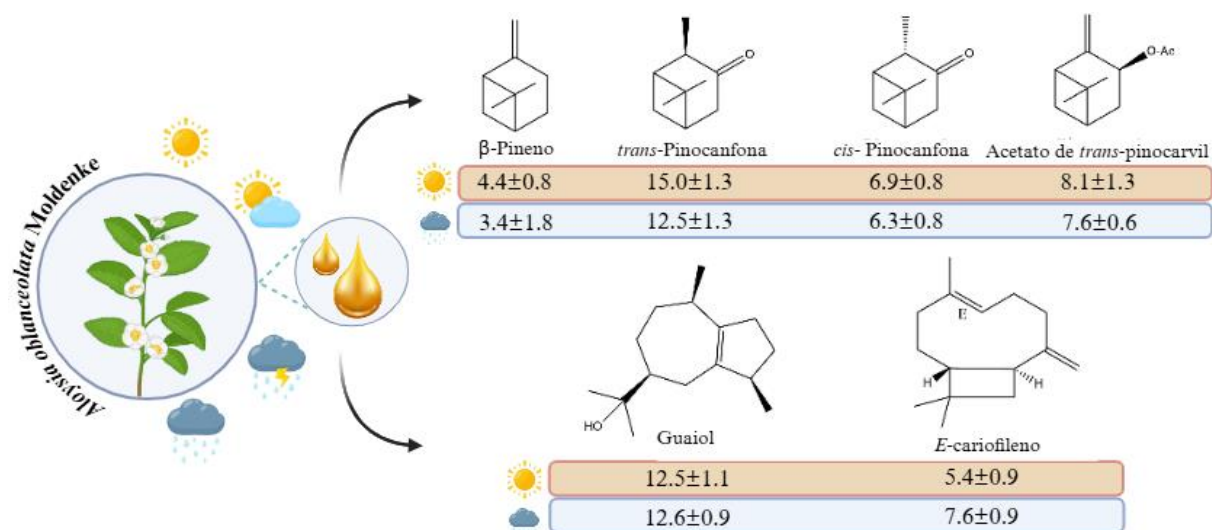


Figura 6. Estruturas químicas e variação sazonal dos principais constituintes do óleo essencial de *Aloysia oblancoolata* Moldenke. As análises revelaram diferenças quantitativas na composição dos compostos β -pineno, *trans*-pinocanfona, *cis*-pinocanfona, acetato de *trans*-pinocarvil, guaiol e *E*-cariofileno entre os períodos seco (☀️) e chuvoso (☁️). Os dados estão expressos como média da porcentagem relativa $\pm$ desvio padrão.

Tabela 2. Rendimentos e composição química dos óleos essenciais das folhas de *Aloysia oblongeolata* relativos ao estudo sazonal.

Nº	IR _(C)	IR _(L)	Período	Seco	Chuvoso						Seco				
			Meses da Coleta	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out
			Rendimento do Óleo	3,6	3,4	4,8	3,4	4,0	4,5	4,9	3,9	5,3	5,3	4,2	4,9
			Constituintes	(%)											
1	934	932 ^a	α-Pineno	0,6	0,6	0,3	0,4	0,5	0,6	0,4	0,5	0,5	0,4	0,6	1,1
2	974	969 ^a	Sabineno	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2		
3	980	974 ^a	β-Pineno	5,3	5,8	3,9	4,0	5,2	5,1	4,1	5,5	4,3	4,1	0,9	2,2
4	992	988 ^a	Mirceno	1,0	1,2	0,8	0,8	1,0	0,9	0,8	1,1	0,8	0,7	0,2	0,4
5	1029	1024 ^a	Limoneno	1,6	1,8	1,4	1,3	1,7	1,6	1,3	1,7	1,3	1,3	0,4	0,8
6	1047	1044 ^a	E-β-ocimeno	0,6	0,8	0,6	0,7	0,8	0,6	0,6	0,8	0,4	0,3	0,1	0,4
7	1089	1086 ^a	Terpinoleno	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	
8	1101	1095 ^a	Linalool	1,7	2,5	1,7	1,7	2,3	2,3	1,8	2,3	1,7	1,8	1,7	2,2
9	1126	1122 ^a	α-canfolenal	0,2	0,3		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,3
10	1140	1135 ^a	trans-Pinocarveol	2,5	3,5	4,6	2,8	3,2	3,3	2,9	3,2	2,8	3,6	3,3	3,4
11	1163	1158 ^a	trans-Pinocanfona	11,1	16,4	14,9	13,5	16,0	15,4	12,9	15,9	13,1	13,2	11,0	13,9
12	1165	1160 ^a	Pinocarvona	1,7	2,3	1,9	1,9	2,2	2,2	2,1	2,4	2,1	2,1	2,0	2,3
13	1176	1172 ^a	cis-Pinocanfona	5,7	8,4	7,0	6,2	7,1	6,9	5,9	7,1	6,0	6,2	5,8	7,8
14	1178	1174 ^a	Terpinen-4-ol	0,3	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4	0,6
15	1191	1186 ^a	α-Terpineol	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3
16	1198	1195 ^a	Mirtenol	2,0	3,1	1,9	1,8	2,4	1,8	2,2	2,4	2,5	2,5	3,6	3,2
17	1204	1199 ^a	γ-Terpineol	0,2	0,3	0,3	0,2		0,2			0,1		0,2	0,2
18	1219	1215 ^a	trans-Carveol	0,2	0,4	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,3		0,3	0,3
19	1286	1287 ^a	Acetato de bornila	0,5	0,7	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6
20	1302	1311 ^a	Acetato de trans-pinocarvil	6,9	9,5	6,1	6,9	8,9	9,1	7,4	8,9	7,6	7,2	7,8	8,6
21	1430	1430 ^a	β-Copaeno		0,1			0,2					0,1		0,3
22	1338	1335 ^a	δ-Elemeno	0,2	0,1	0,2	0,2		0,1	0,2		0,2	0,1	0,2	

23	1385	1387 ^a	β-Bourboneno	0,1		0,3	0,2		0,1	0,2		0,3	0,3	0,3	
24	1393	1389 ^a	β-Elemeno	1,1	0,9	1,2	1,1	0,9	0,9		0,9	1,2	1,1	1,2	0,9
25	1422	1417^a	<i>E</i>-cariofileno	7,1	4,8	6,3	6,0	4,8	4,6	6,6	4,7	7,5	7,7	9.0	6.7
26	1435	1434 ^a	γ-Elemeno	2,1	1,5	2,3	2,1	1,7	1,5	2,2	1,6	2,1	1.8	2.3	1.5
27	1455	1452 ^a	α-Humuleno	1,9	1,3	1,7	1,6	1,3	1,3	1,9	1,3	2,0	2.0	2.2	1.6
28	1462	1464 ^a	9-epi- <i>E</i> -cariofileno	0,2	0,1	0,3	0,2	0,1	0,2	0,3	0,1	0,3	0,2	0,2	
29	1483	1478 ^a	γ-Muuroleno	5,3	4,2	6,4	6,1	5,2	4,6	6,9	5,2	6,0	5.2	3.8	3.9
30	1498	1500 ^a	Biciclogermacreno	2,5	1,8	2,4	2,4	1,8	1,6	2,4	1,8	2,2	2.0	2.8	2.3
31	1516	1522 ^a	δ-Cadineno	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,2
32	1551	1548 ^a	Elemol	2,2	1,6	1,6	2,3	2,3	1,9	1,9	2,2	1,6	1.7	1.6	2.1
33	1559	1559 ^a	Germacreno B	3,2	2,3	3,5	3,2	2,6	2,4	3,3	2,6	3,3	2.9	3.4	2.4
34	1580	1577 ^a	Espatuleno	1,4	0,8	0,9	1,0	0,8	1,7	1,2	0,9	1,6	2.1	3.2	2.4
35	1585	1582 ^a	Óxido de cariofileno	3,5	2,6	2,9	3,1	2,2	3,0	2,9	2,2	3,4	3.9	5.4	4.6
36	1603	1600^a	Guaiol	14,2	10,8	13,4	14,0	12,3	11,4	13,1	12,4	12,4	11.8	12.6	12.1
37	1611	1609 ^a	Rosifoliol	1,5		1,4	1,4	1,3	1,4	1,4	1,1	1,5	1.6	1.8	1.59
38	1671	1670 ^a	Bulnesol	6,6	4,3	4,9	6,3	6,0	5,4	6,2	6,0	5,0	5.0	4.8	4.87
Hidrocarbonetos Monoterpênicos				9,5	10,7	7,3	7,6	9,6	9,2	7,5	10,1	7,6	7,1	2,4	4,9
Monoterpenos Oxigenados				33,2	48,1	39,8	36,4	43,7	42,9	36,6	43,7	37,5	37,7	37,1	43,7
Hidrocarbonetos Sesquiterpênicos				26,2	19,0	26,5	25,7	21,2	19,6	26,2	20,7	27,0	25,5	27,3	21,6
Sesquiterpenos Oxigenados				27,2	18,5	23,5	25,8	25,8	22,9	24,8	22,6	23,9	24,4	27,8	25,6
Total (%)				96,1	96,5	97,1	95,5	97,1	94,6	95,1	97,1	96,0	94,7	94,6	95,8

RI_(C) = Índice de retenção calculado; RI_(L) = índice de retenção de literatura; a = Adams (2007); Principais constituintes em negrito; O desvio padrão foi inferior a 2,0 (n = 2).

Os constituintes químicos que se correlacionaram significativamente com os fatores climáticos foram a *trans*-Pinocanfona, que apresentou correlação negativa com a insolação ($r = -0,54$) e o β -Pineno, que apresentou correlação positiva com a temperatura ($0,51$). Entretanto, alguns constituintes se correlacionaram com os parâmetros climáticos sem significância ($p < 0,05$). Além disso, a classe de hidrocarbonetos monoterpênicos apresentou correlação positiva com a umidade ($r = 0,53$), e a classe de hidrocarbonetos sesquiterpênicos apresentou correlação negativa com a umidade ($r = -0,32$) e correlação positiva com a insolação ($r = 0,48$) (Figura 5).

Durante o estudo sazonal, foram observadas variações nas quantidades dos principais constituintes ao longo das estações. Na estação chuvosa, a *trans*-Pinocanfona apresentou os maiores teores de 15,0%, enquanto na estação seca esse valor foi reduzido para 12,5%. Por outro lado, o Guaiol apresentou uma concentração de 10,8% na estação chuvosa e aumentou para 12,4% na estação seca. O acetato de *trans*-Pinocarvila apresentou teores de 8,1% na estação chuvosa e 7,6% na estação seca. A *cis*-Pinocanfona variou de 6,9% na estação chuvosa para 6,3% na estação seca. O *E*-Cariofileno aumentou os teores de 5,4% na estação chuvosa para 7,6% na estação seca. Em contraste, o β -pineno registrou as maiores quantidades na estação chuvosa (4,8%), enquanto na estação seca, um nível menor foi observado (3,4%).

Ainda há informações limitadas disponíveis sobre os mecanismos por trás da influência de fatores ambientais nas emissões de terpenos. Estudos mostram que a temperatura, a pressão de vapor dos terpenos, a umidade do ar ao redor da folha e a área de exposição aos óleos essenciais estão envolvidas na liberação passiva de terpenos constitutivos, de maneira frequentemente independente da abertura estomática. Além disso, a emissão de monoterpênicos também pode ser influenciada por estresse térmico/estresse por calor, quando as plantas são expostas a altas temperaturas que afetam alguns processos fisiológicos. Devido ao estresse por calor, os estômatos se abrem e os monoterpênicos provavelmente são liberados na atmosfera imediatamente após sua síntese a partir de tecidos não estocáveis (MALIK et al., 2023)

4.3. Análise multivariada do óleo essencial de *Aloysia ob lanceolata*

Análise hierárquica de cluster (HCA) e análise de componentes principais (PCA) foram plotados com os principais constituintes do óleo essencial acima de 3%. Aplicando análise hierárquica de cluster (HCA) (figura 7), forneceu o dendrograma mostrado na Figura 6, que apresenta a formação de três grupos e sem similaridade dos constituintes voláteis do óleo essencial de *Aloysia ob lanceolata*. O Grupo I foi composto pelos óleos de abril, junho, março e dezembro com uma similaridade de 52,65%. O Grupo II apresentou uma similaridade de 36,82% e as amostras para formação dos grupos foram as de outubro e setembro. Enquanto o

grupo III apresentou uma similaridade de 34,68% que foram representadas pelas amostras de janeiro, agosto, julho, maio, fevereiro e novembro.

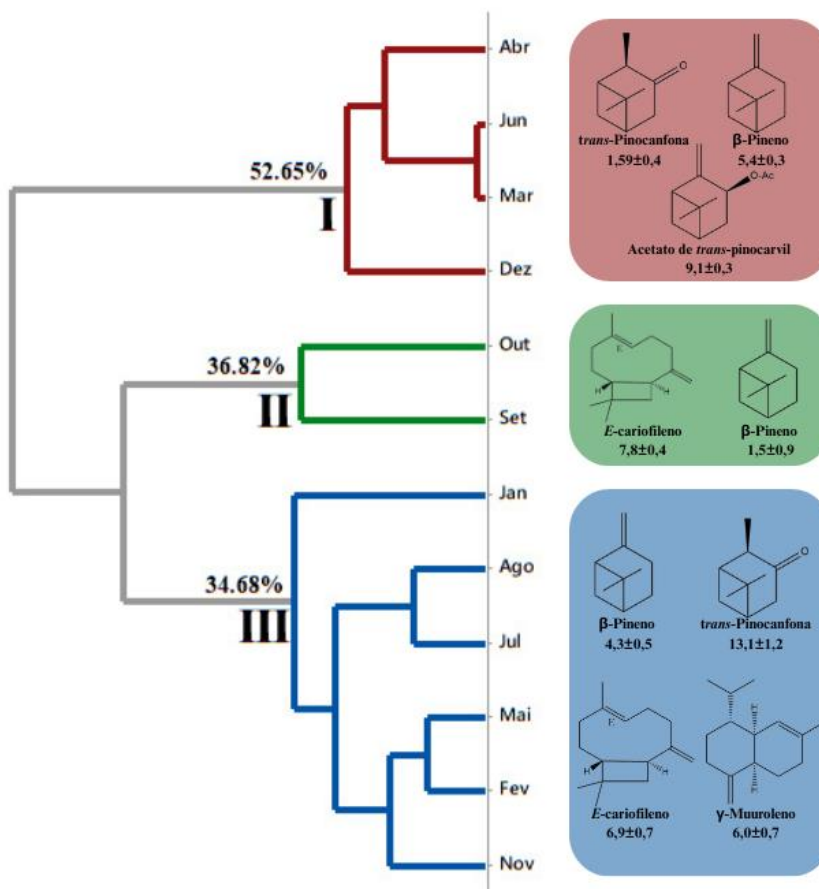


Figura 7. Análise hierárquica de cluster dos principais constituintes do óleo essencial de *Aloysia ob lanceolata*

Na análise sazonal da composição química do óleo essencial, observou-se variação na concentração dos principais constituintes ao longo dos períodos seco e chuvoso. O *trans* acetato de pinocarvila foi o componente predominante do grupo I (9,1 $\pm$ 0,3%), enquanto o *E*-cariofileno foi o principal constituinte do grupo II (7,8 $\pm$ 1,6%) e o *trans*-Pinocanfona (13,1 $\pm$ 1,2%) no grupo III.

Esses resultados indicam uma mudança na sazonalidade da composição química do óleo essencial, possivelmente influenciada por fatores ambientais e pelo desenvolvimento da planta. A Análise de Componentes Principais (PCA, Figura 8) dos constituintes do óleo essencial de *Aloysia ob lanceolata* elucidou 87,92% da variabilidade dos dados. Assim como a HCA, a análise de PCA confirmou a formação de três grupos distintos.

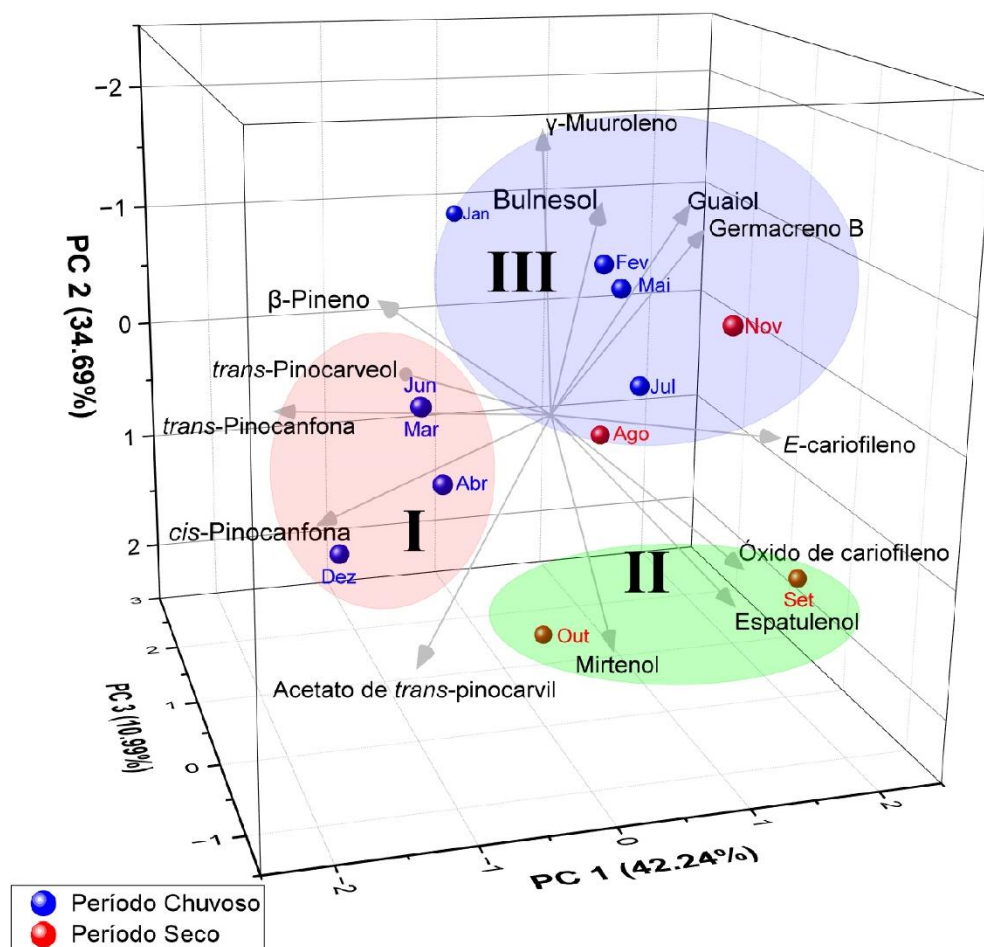


Figura 8. Análise hierárquica de cluster dos principais constituintes do óleo essencial de *Aloysia oblanceolata*

A análise dos teores médios e desvios-padrão dos constituintes presentes no OEAO (Figura 9) mostrou que. O Grupo II diferiu dos outros grupos em termos de conteúdo de β -pineno (I = $4,3 \pm 0,5\%$; II = $5,2 \pm 0,3\%$; III = $1,6 \pm 0,9\%$), *trans*-Pinocanfona (I = $13,1 \pm 1,2\%$; II = $15,9 \pm 0,4\%$; III = $12,5 \pm 2,1\%$) e conteúdo de *E*-cariofileno (I = $6,9 \pm 0,7\%$; II = $4,7 \pm 0,1\%$; III = $7,9 \pm 1,6\%$). Além disso, o Grupo III diferiu dos outros grupos em termos de conteúdo de β -pineno (I = $4,3 \pm 0,5\%$; II = $5,2 \pm 0,3\%$; III = $1,6 \pm 0,9\%$).

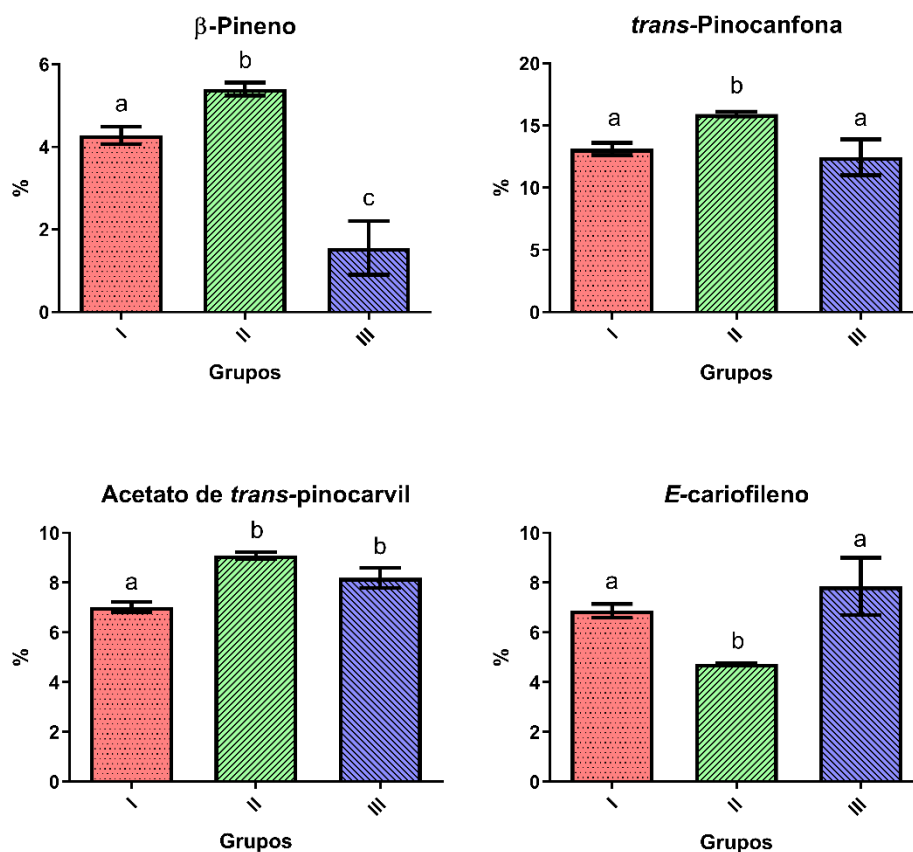


Figura 9. Análise dos desvios-padrão dos três grupos de *Aloysia ob lanceolata* no estudo sazonal. Média $\pm$ desvio-padrão. Valores com as mesmas letras nas barras não diferem estatisticamente no teste de Tukey ($p > 0,05$).

Aplicando a análise multivariada com o mapa de calor, combinando a análise de agrupamento hierárquico (Figura 10) com os constituintes químicos, o padrão de cor variou com intensidade gradualmente crescente, indicando do menor ao maior grau. O mapa de calor agrupado (Figura 10) confirmou os resultados de agrupamento obtidos em PCA e HCA (ver Figuras 8 e 9).

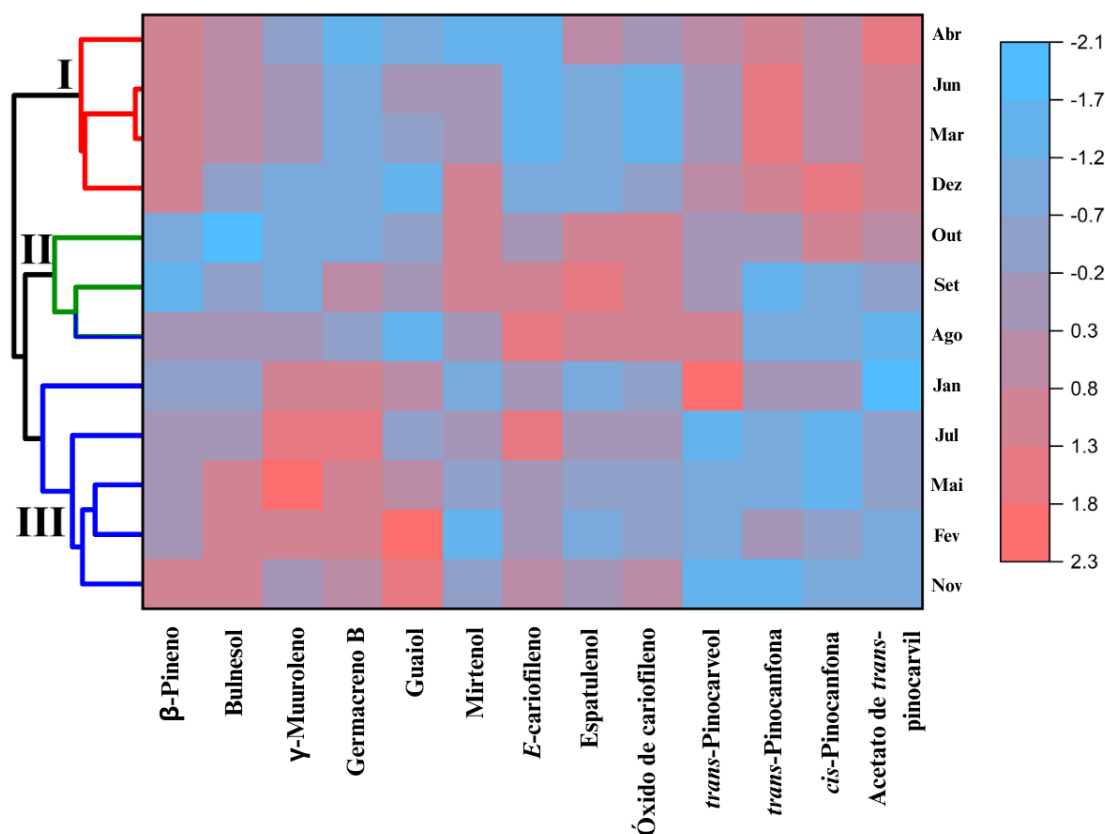


Figura 10. Mapa de calor de agrupamento com os constituintes dos óleos essenciais de amostras de *Aloysia oblancoolata*.

4.4. Efeitos da toxicidade oral aguda

O tratamento com OEAO, nas doses de 300 e 2.000 mg/kg, não exibiu mudanças nos padrões de comportamento ou mortalidade dos animais. O óleo pode ser classificado como categoria 5, apresentando doses letais (LD50) entre 2.000 e 5.000 mg/kg e baixa toxicidade aguda (OECD, 2002). Outro parâmetro de toxicidade avaliado foi o peso relativo dos órgãos. Não foram observadas diferenças nos pesos relativos dos órgãos dos animais que foram tratados com o OE em comparação ao grupo controle (Tabela 3).

Tabela 3. Peso relativo dos principais órgãos de camundongos tratados com óleo e controle grupo

Grupo	Peso relativo dos órgãos				
	Fígado	Coração	Baço	Rim	Pulmão
Controle	14,82±0,34 ^a	1,31±0,04 ^b	1,37±0,10 ^c	2,51±0,09 ^d	1,37±0,10 ^e
OEAO 300 mg/kg	13,81±0,13 ^a	1,31±0,03 ^b	1,46±0,05 ^c	2,73±0,09 ^d	1,46±0,05 ^e
OEAO 2000 mg/kg	13,89±0,31 ^a	1,18±0,03 ^b	1,14±0,05 ^c	2,36±0,03 ^d	1,14±0,05 ^e

Cada coluna representa a média ± SEM (erro padrão da média), de 5 animais. Valores com as mesmas letras nas barras não foram considerados estatisticamente significativos quando comparados ao controle.

No estudo da avaliação da toxicidade de substâncias, destaca-se a análise da função do fígado e do rim. Esses órgãos, são essenciais para desintoxicar e excretar substâncias do corpo.

Dessa forma, a avaliação de parâmetros bioquímicos por meio da análise de enzimas hepática como ALP (Fosfatase Alcalina), TGO (Transaminase Oxalacética) e TGP (Transaminase Pirúvica), e das renais, ureia e creatinina, são de extrema importância para a triagem de novos drogas e substâncias (AMADI et al., 2019).

Os níveis das enzimas ALP, TGO e TGP são mostrados na tabela 4. Com relação a ALP, não houve um aumento significativo dos níveis dessa enzima, nas doses de 300 e 2000 mg/kg quando comparado ao grupo controle ($P < 0.05$). Não houve diferença nos demais parâmetros analisados. O aumento da atividade dessa enzima na faixa de dois a três vezes pode ser considerado indicativo de doença hepatocelular irreversível, enquanto o aumento de uma a duas vezes, como nos resultados de neste estudo, indicam dano hepatocelular reversível. Além disso mudanças acentuadas nos níveis de ALP durante o tratamento medicamentoso não devem ser automaticamente consideradas como o surgimento de implicações toxicológicas de referência (HALL et al., 2012).

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos de camundongos tratados com óleo de *Aloysia ob lanceolata* e grupo controle

Grupo	Parâmetros hepáticos (U/L)			Parâmetros Renais (mg/dL)	
	ALP	TGO	TGP	Ureia	Creatinina
Controle	416,8±67,7 ^a	361,6±110,5 ^b	89,6±35,8 ^c	64,8±4,3 ^d	0,2±0,1 ^e
OEAo 300 mg/kg	535,4±86,8 ^a	319,6±150,2 ^b	114,6±86,6 ^c	71,8±9,6 ^d	0,2±0,1 ^e
OEAo 2000 mg/kg	575±67,7 [*]	369±65,6 ^b	87,4±17,5 ^c	66,8±8,1 ^d	0,2±0,0 ^e

Cada coluna representa a média ± SEM (erro padrão da média) de 5 animais; não apresentou diferença estatisticamente significativo quando comparado ao grupo controle $p < 0,05$;

4.4.1. Efeitos do óleo essencial de *Aloysia ob lanceolata* sobre parâmetros de estresse oxidativo no teste de toxicidade oral aguda

Não houve diferença significativa nas concentrações de peroxidação lipídica e de nitrito no rim e fígado de animais tratados com as doses de OEAo quando comparados ao controle ($p > 0,05$). Resultado similar foi observado para a atividade da catalase no fígado dos animais. Entretanto, a dose de 300 mg/kg do OEAo aumentou significativamente a atividade da catalase no rim, quando comparada ao grupo controle ($p < 0,05$). A dose de 2000 mg/kg do óleo essencial não alterou a atividade da catalase nesse órgão.

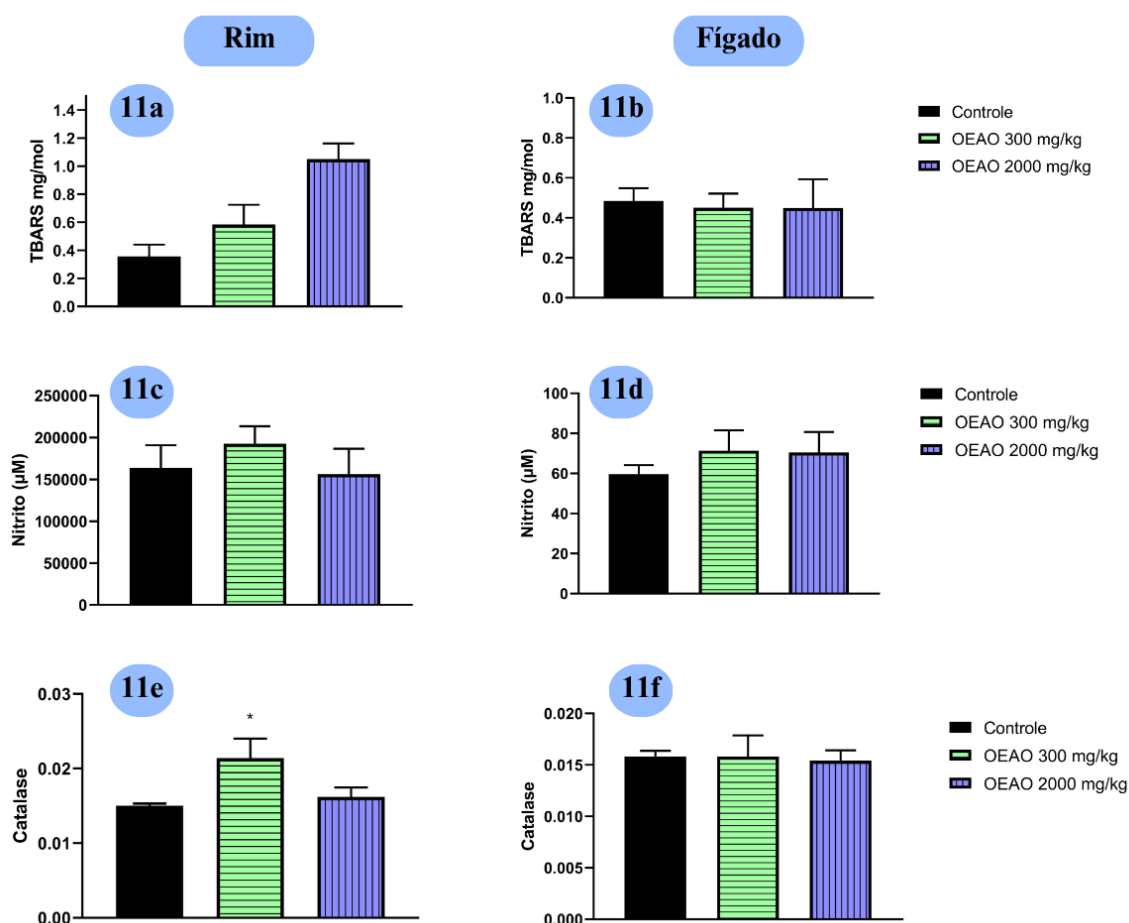


Figura 11. Efeitos do tratamento com o óleo essencial de *Aloysia obloncelata* (300 e 200 mg/kg) sobre a peroxidação lipídica (11a e 11b), níveis de nitrito (11c e 11d) e a atividade de catalase (11e e 11f) em tecidos de rim e fígado de camundongos machos. Os valores são expressos como média $\pm$ erro padrão, $n=5$ animais por grupo. * $p<0,05$ quando comparados ao grupo controle. ANOVA de uma via, seguida de pós-teste de Tukey.

O rim é um órgão essencial para a remoção de resíduos e regulação de eletrólitos e o fígado para o metabolismo, digestão, desintoxicação e excreção de substâncias do organismo (ABDELKADER et al., 2020; BARIWENI; YIBALA; OZOLUA, 2018). Portanto, desempenham um papel vital na manutenção, desempenho e regulação da homeostase do corpo. Nesse sentido, se submetidos a exposição de substâncias tóxicas podem apresentar perda de função, causando desorganização celular ou morte celular. Uma das principais vias de danos ocasionadas por substâncias tóxicas a esses órgãos é o estresse oxidativo (AINYANBHOR et al., 2024; QURESHI; RAZZAQ; NAZ, 2024).

O estresse oxidativo caracteriza-se pelo desbalanço entre o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e a diminuição da capacidade antioxidante (ASHRAF et al., 2020; CAO et al., 2021; DAVID et al., 2022). O excesso de EROS ao provocar a oxidação de lipídios, principalmente, a ácidos graxos poliinsaturados, gera um evento denominado de

peroxidação lipídica, produzindo como produto o malondialdeído (MDA) (PEÑA-BAUTISTA et al., 2019). Este pode ser avaliado por meio da técnica de substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBRAS). Nesse estudo, a administração do OEAO não afetou as concentrações de TBARS no rim e fígado dos animais quando comparados ao grupo controle. Isto indicando que o óleo essencial não induz peroxidação lipídica (figura 11a e 11b).

Outra cascata importante de produção de EROs é o metabolismo de arginina pela sintase de óxido nítrico (NOS) gerando óxido nítrico (NO). O NO pode reagir com o anion superóxido e consequentemente, formar o peroxinitrito (ONOO^-). O ONOO^- e o H_2O_2 podem ser biotransformados em radical hidroxila, compostos altamente reativos (GHASEMI, 2019; HALLIWELL, 2012). O metabolismo oxidativo do NO é o nitrito e o aumento de sua concentração pode ser indicativo de estresse oxidativo (OKAMOTO et al., 2022). Não foram observados diferença nos níveis de nitrito no fígado e rim de animais tratados com o OEAO quando comparados aos animais do grupo controle (figura 11c e 11d). Esse resultado pode indicar que o óleo essencial não induz estresse oxidativo pela via do NO.

Fisiologicamente, as EROs são neutralizadas pelo sistema antioxidante endógeno não enzimático (conteúdo de glutathione – GSH) ou enzimática, sendo composto pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) e principalmente, a catalase (CAT) que em conjunto agem reduzindo a oxidação molecular (HALLIWELL, 1992). A SOD dismuta o anion superóxido à peróxido de hidrogênio. A catalase é a segunda enzima antioxidante, convertendo o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. A administração do OEAO aumentou a atividade da catalase no rim dos animais tratados com a dose de 300 mg/kg., indicando ação antioxidante (figura 11e e 11f). Tomados em conjuntos, esses resultados podem sugerir que o tratamento com o óleo essencial de *Aloysia oblongeolata* apresenta atividade antioxidante protetora e não induz peroxidação lipídica no rim e fígado dos animais.

4.5. Efeitos analgésico periférico do OEAO no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético

O ácido acético administrado intraperitoneal ataca as membranas serosas e estimula a liberação de substâncias inflamatórias, como histamina, prostaglandinas e citocinas pró-inflamatórias, causando assim a sensação de dor (contorções) em camundongos submetidos ao teste (DANTAS et al., 2020; DE LIMA et al., 2023). O teste de contorções induzidas por ácido acético avaliou a inibição da estimulação química da dor periférica. Nos animais, a dor é apresentada como contorções abdominais, quanto menor o número de contorções abdominais, maior será a atividade antinociceptiva periférica (DA FONSECA et al., 2021).

Portanto, foram adotados testes de antinocicepção, nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg. Foi possível verificar, na Figura 12, uma redução de 23,99% nas contorções no grupo que receberam a dose de 50 mg/kg do óleo essencial de *Aloysia oblongeolata*, os animais que receberam a dose de 100 mg/kg tiveram uma redução de 41,70% em comparação com grupo controle ($p < 0,01$). Não houve diferença estatística entre o grupo controle e os animais tratados com OEAO (25 mg/kg). Em animais tratados com (indometacina 5 mg/kg), observou-se que o percentual de inibição das contorções foi 76,49% ($p < 0,01$).

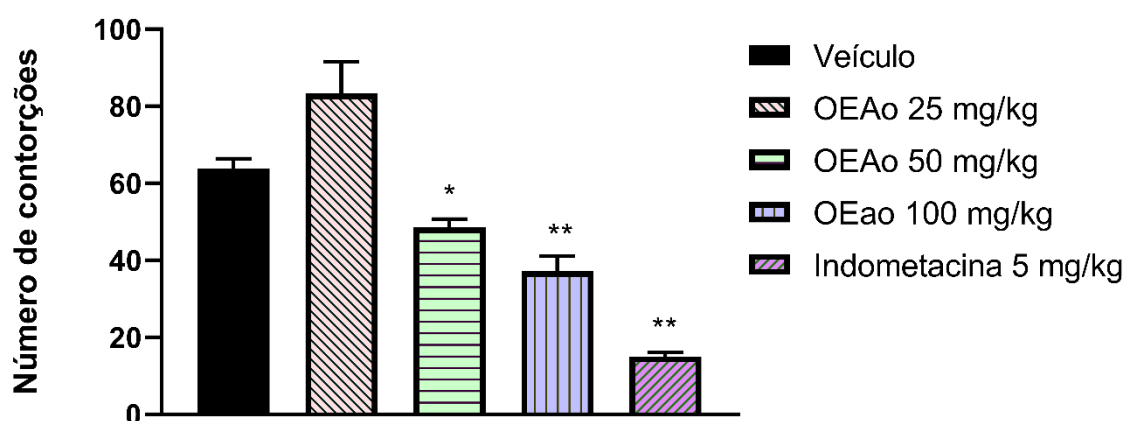


Figura 12. Efeitos antinociceptivos de OEAO (25, 50 e 100 mg/kg), indometacina (5 mg/kg) e veículo (1% tween 80 diluído em solução salina estéril, v/v, 10 mL/kg) no número de contorções na dor visceral causada pelo ácido acético. Os valores representam média ± SEM (erro padrão da média) ($n = 6$ por grupo). *, ** $p < 0,01$ denota estatística diferença em comparação com ratos tratados com veículo. ANOVA, seguindo o teste de Tukey

4.6. Teste de imersão de cauda

O modelo de nocicepção induzida pelo teste de imersão da cauda foi um dos métodos mais utilizados e muito úteis para definir a atividade antinociceptiva de novos medicamentos e extratos vegetais. O teste de imersão da cauda é um importante avaliador da atividade analgésica central em camundongos ao estudar a potencial atividade antinociceptiva de uma droga podendo distinguir os analgésicos opioides dos analgésicos de ação periféricas (LI et al., 2021; RÁCZ; ZIMMER, 2006).

O OEAO não aumentou de maneira significativa o tempo de latência de retirada de cauda em todos os intervalos estudados quando comparados ao grupo controle ($p > 0,05$). Os animais tratados com OEAO na dose 25 mg/kg nos períodos 30 min ($4,40 \pm 2,7$ s), 60 min ($4,13 \pm 0,9$ s), 90 min ($5,51 \pm 3,1$ s) e 120 minutos ($5,43 \pm 5,6$ s), na dose de 50 mg/kg nos períodos 30 min ($3,84 \pm 1,6$ s), 60 min ($3,98 \pm 1,5$ s), 90 min ($3,71 \pm 2,0$ s) e 120 minutos ($5,34 \pm 5,5$ s) e na dose de 100 mg/kg nos períodos de 30 min ($2,59 \pm 0,7$ s), 60 min ($2,14 \pm 0,3$ s), 90 min ($2,43 \pm 1,4$ s) e 120 minutos ($4,22 \pm 1,7$ s), comparados ao grupo tratado com morfina de 5 mg/kg que apresentou maior tempo de latência nos períodos 30 min ($15,0 \pm 0,0$ s), 60 min ($15,0 \pm 0,0$ s), 90 min

($15,0 \pm 0,0$ s) e 120 minutos ($13,16 \pm 4,12$ s) e comparados ao grupo controle nos períodos 30 min ($2,79 \pm 0,96$ s), 60 min ($3,50 \pm 0,76$ s), 90 min ($2,58 \pm 0,76$ s) e 120 minutos ($2,82 \pm 1,77$ s). Portanto, é perceptível que as doses de 25, 50 e 100 mg/kg, não apresentou ação relevante do OEAO na atividade analgésica central de camundongos (Figura 13).

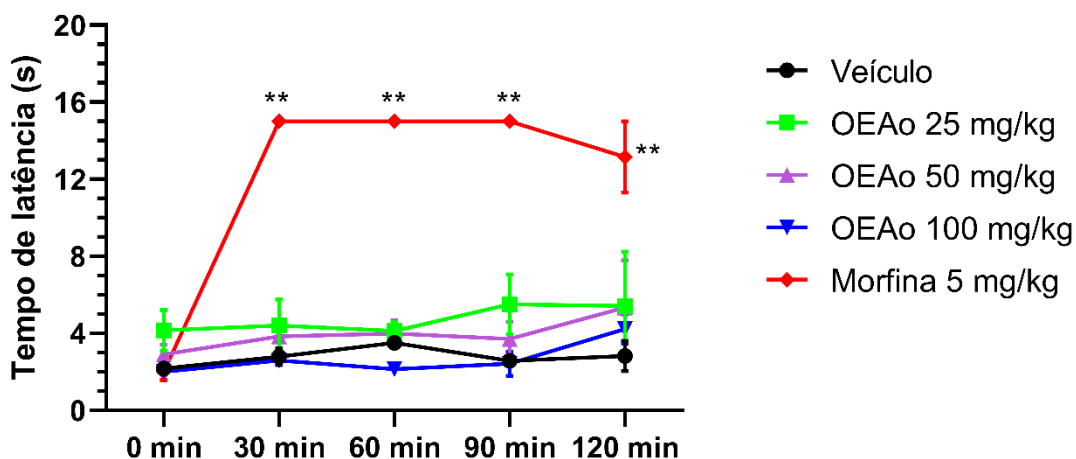


Figura 13. Efeitos antinociceptivos de OEAO (25, 50 e 100 mg/kg), morfina (5 mg/kg) e veículo (1% tween 80 diluído em solução salina estéril, v/v, 10 mL/kg) em tempo de latência dos camundongos à imersão de cauda. Os valores representam média $\pm$ SEM (erro padrão da média) ($n = 6$ por grupo). ** $p < 0,01$ denota diferença estatística em comparação com camundongos tratados com veículo. ANOVA, seguindo teste de Tukey.

4.7. Teste formalina

No teste da formalina, o óleo essencial de *Aloysia oblongeolata* avaliou os efeitos durante as etapas neurogênica e inflamatória, contando o tempo de lambida em segundos durante as fases. A primeira fase que avaliou a dor neurogênica nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg de OEAO não diminuiu significativamente o tempo de lambida dos camundongos em relação ao grupo controle ($p > 0,05$), enquanto na segunda fase que avalia dor inflamatória o OEAO diminuiu consideravelmente o tempo de lambida doses de 50 mg/kg (49,52%) e 100 mg/kg (58,47%) ($p < 0,01$) em comparação ao grupo controle. Porém, a morfina (5 mg/kg) diminuiu consideravelmente o tempo de lambida tanto na primeira (78,34%) ($p < 0,01$) quanto na segunda fase (92,37%) ($p < 0,01$) em comparação ao grupo controle, o OEAO apresentou resultados promissores na fase periférica inibindo os mediadores inflamatórios (Figura 14).

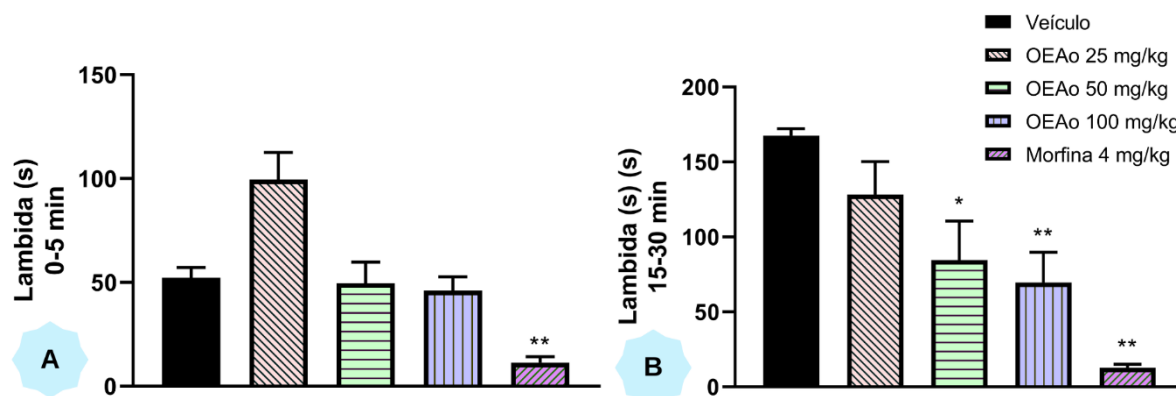


Figura 14. Efeito analgésico central e periférico do OEAo (25, 50 e 100 mg/kg) no teste da formalina em camundongos. A: primeira fase, avalia dor neurogênica; B: segunda fase, avalia dor inflamatória. Cada coluna representa a média $\pm$ SEM (erro padrão da média) de 6 animais. ** $p < 0,01$ foi considerado estatisticamente significativo quando comparado ao controle (ANOVA, seguida de pós-teste de Tukey).

O teste da formalina é um dos modelos mais utilizados para seleção de compostos antinociceptivos., consiste na injeção de formalina na pata traseira do camundongo, o que produz nocicepção bifásica (GOMES et al., 2007; RAMIREZ et al., 2010). A primeira fase da nocicepção correspondia diretamente à dor neurogênica ocorre no intervalo de 0 a 5 minutos, causada pelos efeitos da formalina nas fibras sensoriais. A segunda fase da nocicepção, também conhecida como fase inflamatória ocorre entre 15 -30 minutos, interligada com o desenvolvimento da reação inflamatória para liberar os mediadores nociceptivos que incluem serotonina, bradicinina e prostaglandinas (DANTAS et al., 2020; REYNOSO et al., 2013).

4.8. Campo Aberto

O teste de campo aberto foi utilizado para a verificar se o tratamento com OEAo (100 mg/kg) poderia alterar a locomoção espontânea dos animais, gerando influência sobre os resultados dos testes antinociceptivos (ALIJAR SOUZA et al., 2022). Os animais tratados com OEAo percorreram uma distância média de $35,7 \pm 8,7$ m quando comparados ao grupo controle que percorreram $46,7 \pm 10,9$ m. Não houve diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$) (Figura 15). Esses dados demonstram que o óleo essencial não apresenta interferência na atividade motora dos animais.

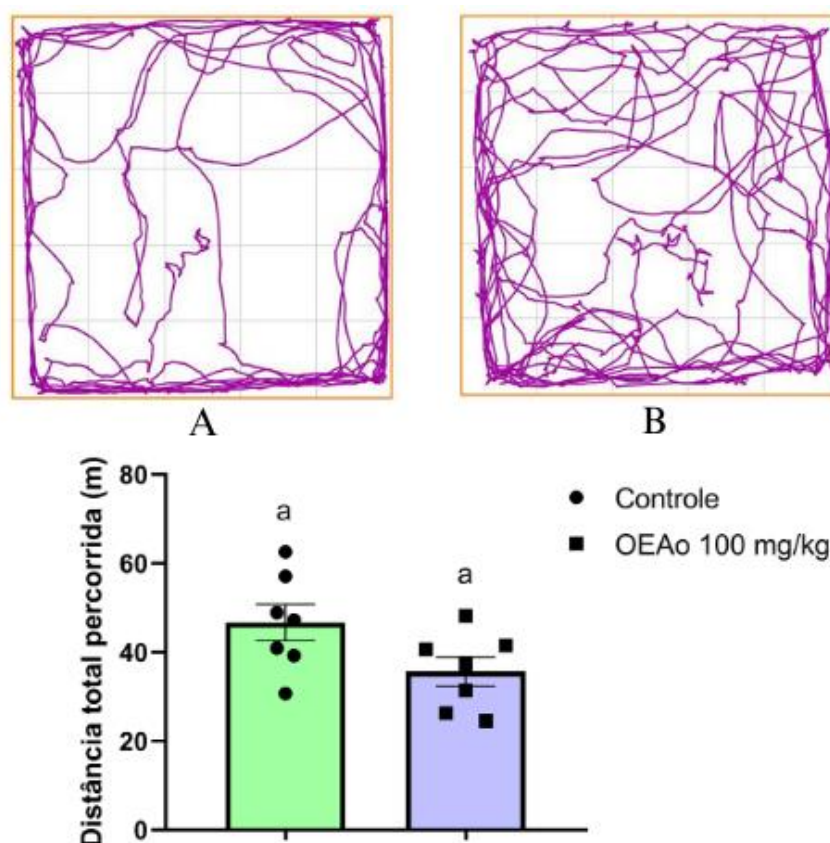


Figura 15. Efeito do OEAO (100 mg/kg) administrado 60 minutos antes, da atividade locomotora de camundongos na distância total percorrida. Cada coluna representa a média $\pm$ SEM ANOVA unidirecional seguida pelo teste de Tukey, a $p < 0,05$ não apresenta diferença entre os grupos. A: OEAO (100 mg/kg), B: Grupo controle.

4.9. Mecanismos de Ação das Atividade Antinociceptivos

Os opioides são liberados em diversas regiões do SNC como tronco encefálico, medulla espinhal e nas terminações nervosas livres (MALAFOGLIA et al., 2022). Seu principal papel é a inibição da transmissão sináptica em resposta ao estímulo doloroso. Seu mecanismo de ação principal é reduzir a condução pré-sináptica do cálcio, ocasionando a inibição da liberação de neurotransmissores como o glutamate, e consequentemente, aumentando a condutância pós-sináptica de potássio reduzindo a geração do potencial de ação (FREITAS et al., 2021; SALVEMINI; DOYLE, 2023).

Neste estudo, previsivelmente, a morfina (4 mg/kg) reduziu o número de contorções abdominais ($p < 0,01$) e o pré-tratamento com naloxona (5 mg/kg) bloqueou efetivamente a atividade antinociceptiva da morfina ($p < 0,01$). De forma similar, a naloxona reverteu o efeito antinociceptivo do OEAO (100 mg/kg) ($p < 0,01$). A naloxona administrada isoladamente não alterou o número de contorções quando comparada ao controle ($p > 0,05$). Esses dados indicam que o efeito analgésico do OEAO é mediado pelos receptores opioides (Figura 16a). Diferentemente do que foi encontrado nessa pesquisa, o extrato supercítico de *Aloysia*

oblonceolata, com guaniol como composto em maior teor, não apresentou como mecanismo de ação da atividade antinociceptiva, o sistema opióide. Isso pode indicar que o método de extração e a composição geral do extrato são diferentes da encontrada nesse estudo (SOUZA et al., 2021).

Outras vias importantes para os mecanismos de ação da atividade antinociceptiva são aquelas envolvidas na inibição descendente da nocicepção, como a via serotoninérgica e a α -2 adrenérgica (GENCER; GUNDUZ; ULUGOL, 2015). Estudos tem demonstrado que a inibição descendente da nocicepção é mediada por neurônios serotoninérgicos que se projetam do tronco encefálico e liberam serotonina na medulla espinhal, tornando essa via extremamente importante para a modulação da dor (BARDONI, 2023; PANCZYK et al., 2015). O OEAO (100 mg/kg) foi eficaz em diminuir o número de contorções abdominais quando comparado ao controle ($p < 0,05$).

Quando o antagonista 5-HT₃ Ondansetrona (0,5 mg/kg) foi administrado reverteu a ação antinociceptiva do OEAO (100 mg/kg) ($p < 0,01$), demonstrando que o receptor serotoninérgico está envolvido nos mecanismos de ação da atividade antinociceptiva do OEAO (Figura 16). A ondansetrona administrada isoladamente não alterou o número de contorções abdominais. A ativação dos receptores α 2 adrenérgicos também exercem modulação antinociceptiva associada a inibição descendente da dor (MWOBOWIA; KANUI; ABELSON, 2020).

Os receptores α 2 adrenérgicos ativam a proteína G que inibi a adenilato ciclase, levando ao efluxo de potássio e supressão das correntes de Ca^{2+} . Esses eventos resultam no impedimento da liberação continuada de substância P e do glutamato pelos terminais nervosos, gerando analgesia (BAHARI; MEFTAH, 2019; PERTOVAARA, 2013). Portanto, quando o antagonista α 2 adrenérgico, ioimbina (1 mg/kg) foi administrado nos animais, reverteu a ação antinociceptiva do OEAO (100 mg/kg) ($p < 0,05$), sugerindo que o efeito do óleo essencial tenha ação por via adrenérgica. Já em relação ao sistema dopaminérgico, os receptores D₂, D₃ e D₄ podem ativar os canais de potássio, gerando características antinociceptivas (MANSIKKA et al., 2005).

O controle da excitabilidade neuronal é exercido pelos canais de potássio, ao controlarem o potencial de repouso das células neuronais e a recuperação da voltagem após um potencial de ação. Sua ativação ocasiona um efluxo de potássio, gerando uma hiperpolarização e redução da geração de potencial de ação, o que ocasiona diminuição da resposta neuronal e consequente, antinocicepção (OCAÑA et al., 2004; TAKEDA et al., 2011). No entanto, quando o antagonista não-seletivo dos receptores dopaminérgicos haloperidol (0,2 mg/kg) foi administrado nos animais não reverteu a atividade antinociceptiva do OEAO (100 mg/kg). Por outro lado, o

haloperidol potencializou o efeito analgésico do óleo essencial. Da mesma forma, a avaliação dos canais de potássio envolvidos no efeito antinociceptivo do OEAO demonstrou que o pré-tratamento dos animais com glibenclâmida (5 mg/kg), bloqueador dos canais de potássio, não reverteu a atividade antinociceptiva do óleo essencial ($p>0,05$) (Figura 16).

Esses dados indicam que tanto os receptores dopaminérgicos quanto os canais de potássio não são mecanismos de ação antinociceptiva do OEAO. Muito embora o sistema adenosinérgico esteja envolvido na modulação da dor de diversos compostos naturais (PAGANELLI et al., 2021), o antagonista teofilina (5 mg/kg) não foi capaz de reverter a ação antinociceptiva do OEAO (100 mg/kg). Esses dados indicam que a ação antinociceptiva do OEAO não é mediada pelos receptores de adenosina. Administrado de forma isolada a teofilina não alterou o número de contorções quando comparados ao controle ($p>0,05$) (VINCENZI et al., 2020).

Figura 16a - Opioide

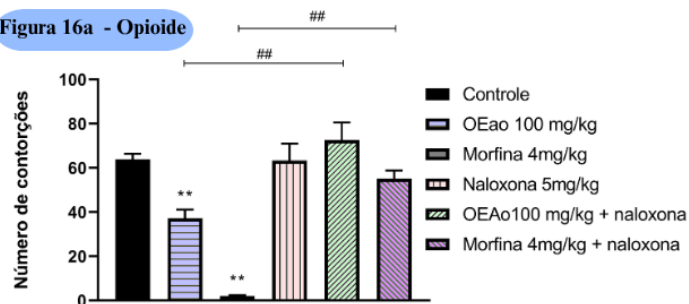
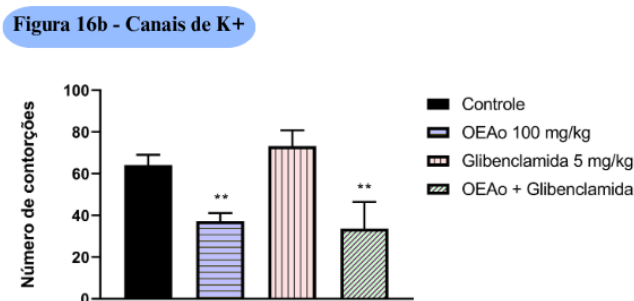
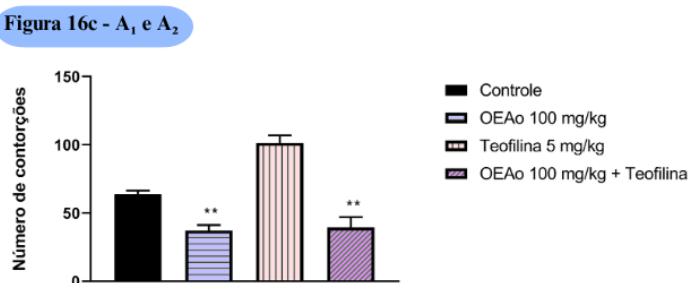
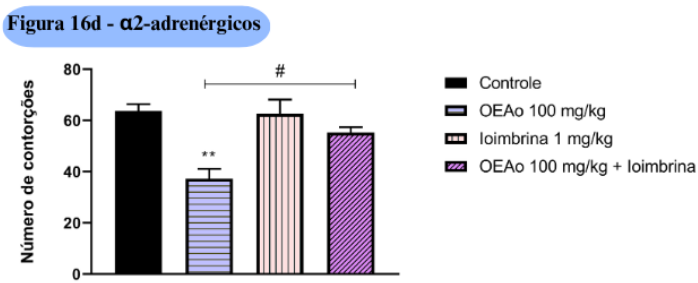
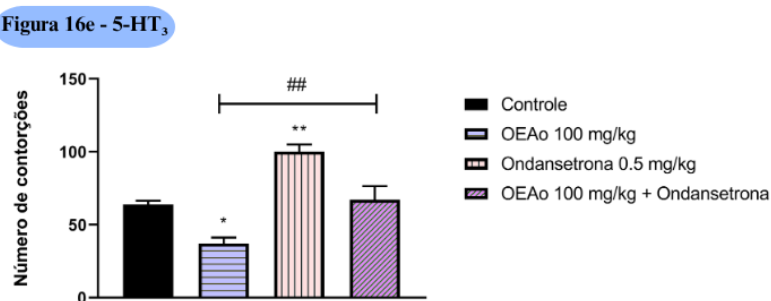
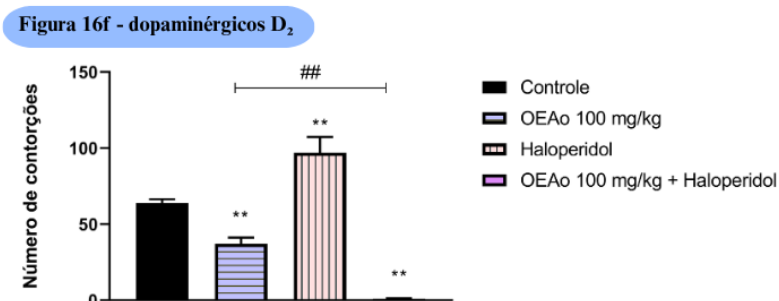
Figura 16b - Canais de K⁺Figura 16c - A₁ e A₂Figura 16d - α₂-adrenérgicosFigura 16e - 5-HT₃Figura 16f - dopaminérgicos D₂

Figura 16. Avaliação dos mecanismos de ação envolvidas no efeito antinociceptivo do óleo essencial de *Aloysia obloceolata* (OEAO) em camundongos submetidos ao teste de contorções induzidas por ácido acético. (a) Participação da via opioide (naloxona). (b) Participação dos canais K⁺ ATP-dependentes (glibenclamida). (c) Participação dos receptores não seletivo de adenosina (A₁ e A₂) (teofilina). (d) Participação dos receptores α₂-adrenérgicos (ioimbina). (e) Participação dos receptores serotoninérgicos 5-HT₃ (ondansetrona). (f) Participação dos receptores dopaminérgicos D₂ (haloperidol). Os dados são expressos como média ± EPM (n = 6). *p < 0,05, **p < 0,01 em relação ao grupo controle; #p < 0,05, ##p < 0,01 em relação ao grupo tratado com OEAO ou agonista com o antagonista (ANOVA seguida de teste de Tukey).

4.10. Efeitos do óleo essencial de *Aloysia obloncelata* no teste de peritonite induzida por carragenina

Os resultados demonstram que o polissacarídeo carragenina apresentou aumento significativo da migração para a cavidade peritoneal em comparação ao grupo controle ($p < 0,01$). Por outro lado, o OEAO nas doses de 50 e 100 mg/kg, apresentou efeito anti-inflamatório, ao diminuir a migração de leucócitos, quando comparado ao grupo salina/carragenina ($p < 0,01$). Uma redução de 50,26% foi observada para a dose de 50 mg/kg e de 42,95% para a dose de 100 mg/kg. Como esperado, a dexametasona (colocar a dose) reduziu a migração celular em 42,26%, quando comparada ao grupo carragenina ($p < 0,01$) (figura 17).

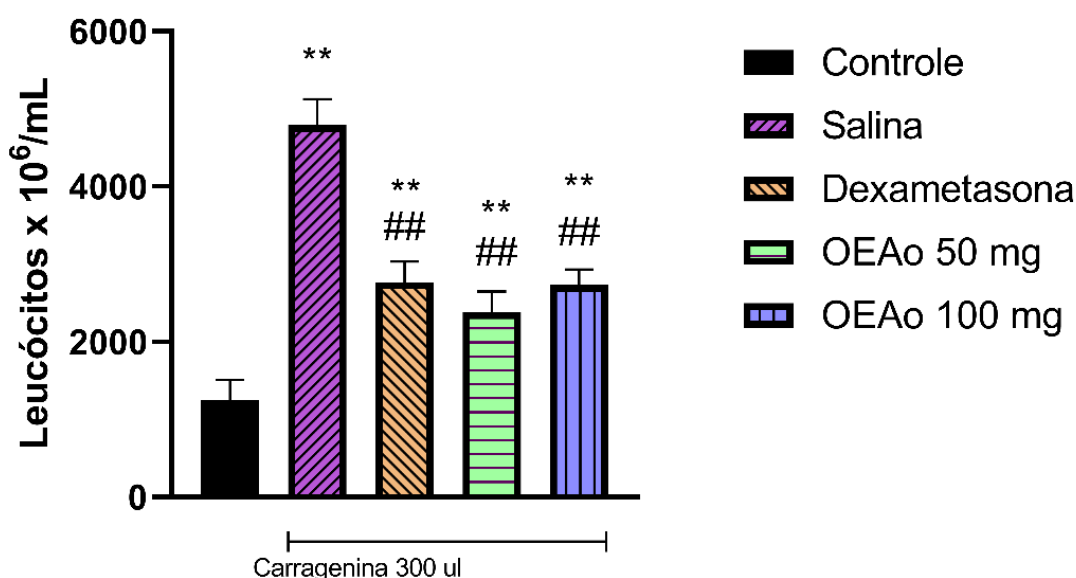


Figura 17. Efeito do OEAO (50 e 100 mg/kg) no teste de peritonite induzida por carragenina. Cada coluna representa a média $\pm$ SEM (erro padrão da média) de 6 animais. * $p < 0,01$ em comparação com o grupo controle. ## $p < 0,01$ em comparação com o grupo salina. (ANOVA, seguida de pós teste de Tukey).

O modelo de peritonite induzida por carragenina é amplamente utilizado para investigar a resposta inflamatória aguda, pois promove alterações típicas como aumento da permeabilidade vascular e recrutamento de leucócitos, especialmente neutrófilos, para a cavidade peritoneal. A carragenina atua estimulando a liberação de mediadores inflamatórios, como prostaglandinas, leucotrienos e espécies reativas de oxigênio, que desencadeiam vasodilatação, exsudação e migração celular (HALL et al., 1998; KUMAR; CHHIBBER; HARJAI, 2014).

A literatura aponta que a migração de leucócitos é um evento essencial na inflamação e que pode ser atenuado por agentes anti-inflamatórios eficazes (DE JESUS et al., 2023; DE VERAS et al., 2023). A redução observada na migração de células inflamatórias 4 horas após

a indução com carragenina nos grupos tratados com dexametasona e OEAO indica que os compostos testados podem agir de forma semelhante a agentes clássicos anti-inflamatórios, inibindo a geração de mediadores inflamatórios e a migração celular. Assim, os achados reforçam o potencial terapêutico dos tratamentos utilizados para o controle da inflamação aguda.

4.11. Efeitos do óleo essencial de *Aloysia obloncelata* sobre parâmetros de estresse oxidativo no teste de peritonite

As concentrações de nitrito no líquido peritoneal foram reduzidas nos animais tratados com o OEAO, em ambas as doses, em comparação ao grupo carragenina ($p < 0,01$). Indicando que o OEAO pode apresentar ação anti-inflamatória. Da mesma forma, o tratamento com dexametasona também levou a uma diminuição significativa na concentração de nitrito ($p < 0,01$). Como esperado, o grupo carragenina apresentou aumento da concentração de nitrito quando comparado ao grupo controle ($p < 0,01$), conforme demonstra a figura 18.

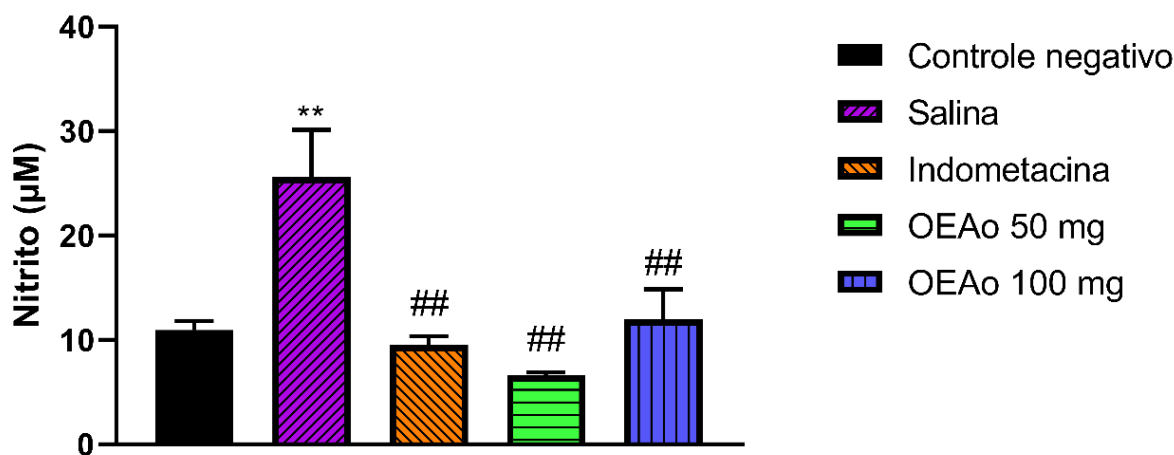


Figura 18. Efeitos do tratamento com o óleo essencial de *Aloysia obloncelata* (50 e 100 mg/kg) sobre a concentração de nitrito no líquido peritoneal de ratos. Os valores são expressos como média $\pm$ erro padrão, $n = 6$ animais por grupo. ** $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle e ## $P < 0,01$ quando comparado ao grupo carragenina. ANOVA de uma via, seguida de pós-teste de Tukey.

O óxido nítrico (NO) é uma molécula pequena produzida por inúmeras células em mamíferos e desempenha funções importantes nas vias de sinalização de mecanismos de defesa, neurotransmissão, relaxamento do músculo liso, dentre outros (BARTH et al., 2016). Apesar de ter funções fisiológicas, o NO pode também atuar como um agente com propriedades de radicais livres ao interagir, principalmente, com o ânion superóxido, gerando peroxinitrito (ONOO^-) e consequentemente, radical hidroxila para o qual não há defesa antioxidante (GHASEMI, 2019; HALLIWELL, 2012). Assim, durante o processo inflamatório, há uma liberação e concentrações elevadas de NO, resultando em vasodilatação e aumento da

permeabilidade vascular. Dessa forma, substâncias que possam eliminar ou inibir o NO podem ser terapêuticas alternativas para o tratamento de doenças inflamatórias (PACE et al., 2017).

5 CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Aloysia ob lanceolata*, proveniente da região amazônica, possui composição química rica em *trans*-pinocanfona, β -pineno, *E*-cariofileno e *trans*-acetato de pinocarveila, demonstrando correlação com fatores climáticos. Isso evidencia que variáveis ambientais e o estágio de desenvolvimento da planta influenciam diretamente a composição química do óleo essencial.

Apesar dessas variações naturais, o óleo essencial de *Aloysia ob lanceolata* apresenta facilidade de padronização em escala industrial, permitindo o controle do perfil químico e garantindo um produto consistente e de qualidade para diferentes aplicações.

É essencial considerar as condições climáticas na produção e utilização desse óleo essencial, especialmente na medicina tradicional, uma vez que sua eficácia pode variar conforme a composição química. No entanto, o estudo demonstrou que o óleo essencial é não tóxico e possui excelente atividade anti-inflamatória, reforçando seu potencial de uso seguro e eficaz, principalmente em práticas medicinais tradicionais.

Este trabalho amplia o conhecimento científico sobre o óleo essencial das folhas de *Aloysia ob lanceolata* e fornece informações valiosas para o uso mais sustentável dessa espécie, bem como para sua valorização nos processos industriais e farmacêuticos.

6 REFERENCIAS

- ABDELKADER, N. F.; ELYAMANY, M.; GAD, A. M.; ASSAF, N.; FAWZY, H. M.; ELESAWY, W. H. Ellagic acid attenuates liver toxicity induced by valproic acid in rats. **Journal of Pharmacological Sciences**, [s. l.], v. 143, n. 1, p. 23–29, 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1347861320300086>>
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gás chromatography/massspectrometry**. Carol Stream, Illinois, EUA: Allured Publishing Corporation, 2007.
- AEBI, H. [13] Catalase in vitro. In: [s.l: s.n.]. p. 121–126.
- AINYANBHOR, I. E.; ONOAGBE, I. O.; EDO, G. I.; YOUSIF, E.; AKPOGHELIE, P. O.; OWHEREUO, J. O.; ISOJE, E. F.; IGBUKU, U. A.; ESSAGHAH, A. E. A.; UMAR, H. Acute and sub-acute toxicity study of aqueous and methanol root extract of *Tetracera alnifolia* in male albino rats. **Toxicology Reports**, [s. l.], v. 13, p. 101786, 2024. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214750024001690>>
- ALIJAR SOUZA, M.; PETRY, F.; VIDOR MORGAN, L.; DAL MAGRO, J.; MÜLLER, L. G. Biological Properties of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. (Verbenaceae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 2022, p. 1–8, 2022. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2022/1119435/>>
- ALMEIDA, R. Plants with central analgesic activity. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 310–322, 2001. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S094471130470046X>>
- AMADI, C. N.; OFFOR, S. J.; FRAZZOLI, C.; ORISAKWE, O. E. Natural antidotes and management of metal toxicity. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 26, n. 18, p. 18032–18052, 2019. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11356-019-05104-2>>
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: A review. **Animal Behaviour**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 205–235, 1973.
- ASHRAF, A.; JEANDRIENS, J.; PARKES, H. G.; SO, P.-W. Iron dyshomeostasis, lipid peroxidation and perturbed expression of cystine/glutamate antiporter in Alzheimer's disease: Evidence of ferroptosis. **Redox Biology**, [s. l.], v. 32, p. 101494, 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213231720301683>>
- BAHARI, Z.; MEFTAH, G. H. Spinal $\alpha 2$ -adrenoceptors and neuropathic pain modulation; therapeutic target. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 176, n. 14, p. 2366–2381, 2019.

Disponível em: <<https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.14580>>

BARDONI, R. Serotonergic 5-HT 7 Receptors as Modulators of the Nociceptive System. **Current Neuropharmacology**, [s. l.], v. 21, n. 7, p. 1548–1557, 2023. Disponível em: <<https://www.eurekaselect.com/211338/article>>

BARIWENI, M. W.; YIBALA, O. I.; OZOLUA, R. I. Toxicological studies on the aqueous leaf extract of *pavetta crassipes* (K. Schum) in rodents. **Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 1–16, 2018.

BARROS, L. de S. P.; SANTOS DA CRUZ, E. de N.; DE ARAÚJO GUIMARÃES, B.; SETZER, W. N.; VERAS MOURÃO, R. H.; DO ROSÁRIO DA SILVA, J. K.; SILVA DA COSTA, J.; BAIA FIGUEIREDO, P. L. 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**, [s. l.], v. 105, n. July, 2022. a.

BARROS, L. de S. P.; SANTOS DA CRUZ, E. de N.; DE ARAÚJO GUIMARÃES, B.; SETZER, W. N.; VERAS MOURÃO, R. H.; DO ROSÁRIO DA SILVA, J. K.; SILVA DA COSTA, J.; BAIA FIGUEIREDO, P. L. 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**, [s. l.], v. 105, p. 104503, 2022. b. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0305197822001235>>

BARTH, C. R.; FUNCHAL, G. A.; LUFT, C.; DE OLIVEIRA, J. R.; PORTO, B. N.; DONADIO, M. V. F. Carrageenan-induced inflammation promotes ROS generation and neutrophil extracellular trap formation in a mouse model of peritonitis. **European Journal of Immunology**, [s. l.], v. 46, n. 4, p. 964–970, 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eji.201545520>>

BENOVIT, S. C.; SILVA, L. L.; SALBEGO, J.; LORO, V. L.; MALLMANN, C. A.; BALDISSEROTTO, B.; FLORES, E. M. M.; HEINZMANN, B. M. Anesthetic activity and bio-guided fractionation of the essential oil of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. in silver catfish *Rhamdia quelen*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s. l.], v. 87, n. 3, p. 1675–1689, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652015000401675&lng=en&tlng=en>

CAO, H.; ZUO, C.; HUANG, Y.; ZHU, L.; ZHAO, J.; YANG, Y.; JIANG, Y.; WANG, F. Hippocampal proteomic analysis reveals activation of necroptosis and ferroptosis in a mouse

model of chronic unpredictable mild stress-induced depression. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 407, p. 113261, 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432821001492>>

CARDOSO, E. K. S.; KUBOTA, K.; LUZ, D. A.; MENDES, P. F. S.; FIGUEIREDO, P. L. B.; LIMA, R. R.; MAIA, C. S. F.; FONTES-JÚNIOR, E. A. Aniba canelilla (Kunth) Mez (Lauraceae) Essential Oil: Effects on Oxidative Stress and Vascular Permeability. **Antioxidants**, [s. l.], v. 11, n. 10, p. 1–13, 2022.

CONEGUNDES, J. L. M.; SILVA, J. M. Da; MENDES, R. de F.; FERNANDES, M. F.; PINTO, N. de C. C.; ALMEIDA, M. A. De; DIB, P. R. B.; ANDRADE, R. de O.; RODRIGUES, M. N.; CASTAÑON, M. C. M. N.; MACEDO, G. C.; SCIO, E. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of Siparuna guianensis Aublet, an amazonian plant traditionally used by indigenous communities. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 265, p. 113344, 2021.

COSTA-SILVA, J. H.; LIMA, C. R.; SILVA, E. J. R.; ARAÚJO, A. V.; FRAGA, M. C. C. A.; RIBEIRO E RIBEIRO, A.; ARRUDA, A. C.; LAFAYETTE, S. S. L.; WANDERLEY, A. G. Acute and subacute toxicity of the Carapa guianensis Aublet (Meliaceae) seed oil. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 116, n. 3, p. 495–500, 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874108000068>>

COSTA, W. K.; DO NASCIMENTO, M. F.; DOS SANTOS, C. R. B.; DEDE OLIVEIRA FARIASAGUIAR, J. C. R.; DO AMARAL FERRAZ NAVARRO, D. M.; NAPOLEÃO, T. H.; DOS SANTOS CORREIA, M. T.; BRAYNER, F. A.; DE OLIVEIRA, A. M.; DA SILVA, M. V. Oral administration of essential oil from Psidium glaziovianum Kiaersk leaves alleviates pain and inflammation in mice. **Inflammopharmacology**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 599–607, 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s10787-022-00940-0>>

DA COSTA, J. S.; BARROSO, A. S.; MOURÃO, R. H. V.; DA SILVA, J. K. R.; MAIA, J. G. S.; FIGUEIREDO, P. L. B. Seasonal and Antioxidant Evaluation of Essential Oil from Eugenia uniflora L., Curzerene-Rich, Thermally Produced in Situ. **Biomolecules**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 328, 2020.

DA FONSECA, A.; FERNANDES RIBEIRO DANTAS, L.; RODRIGUES, J.; ALENCAR FILHO, M. P.; DE MELO RÊGO, M.; DA ROCHA PITTA, M.; DE MORAES GOMES, P.; DE MELO SILVA, V.; LIMA LEITE, A.; FURTADO, A.; FERNANDES PEDROSA, M.; GAVIOLI, E.; MOURA LEMOS, T. PA-Int5: An isatin-thiosemicarbazone derivative that exhibits anti-nociceptive and anti-inflammatory effects in Swiss mice. **Biomedical Reports**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 61, 2021.

DA SILVA, P. E.; SANTOS E SILVA, C. M.; SPYRIDES, M. H. C.; ANDRADE, L. de M. B. Precipitation and air temperature extremes in the Amazon and northeast Brazil. **International Journal of Climatology**, [s. l.], v. 39, n. 2, p. 579–595, 2019. Disponível em: <<https://rmets.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/joc.5829>>

DANTAS, L. L. S. F. R.; FONSECA, A. G.; PEREIRA, J. R.; FURTADO, A. A.; GOMES, P. A. T. M.; FERNANDES-PEDROSA, M. F.; LEITE, A. C. L.; RÊGO, M. J. B. M.; PITTA, M. G. R.; LEMOS, T. M. A. M. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of the isatin derivative (Z)-2-(5-chloro-2-oxoindolin-3-ylidene)-N-phenyl-hydrazinecarbothioamide in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s. l.], v. 53, n. 10, 2020. a.

DANTAS, L. L. S. F. R.; FONSECA, A. G.; PEREIRA, J. R.; FURTADO, A. A.; GOMES, P. A. T. M.; FERNANDES-PEDROSA, M. F.; LEITE, A. C. L.; RÊGO, M. J. B. M.; PITTA, M. G. R.; LEMOS, T. M. A. M. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of the isatin derivative (Z)-2-(5-chloro-2-oxoindolin-3-ylidene)-N-phenyl-hydrazinecarbothioamide in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s. l.], v. 53, n. 10, 2020. b. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2020001000607&tlng=en>

DAVID, S.; JHELMUM, P.; RYAN, F.; JEONG, S. Y.; KRONER, A. Dysregulation of Iron Homeostasis in the Central Nervous System and the Role of Ferroptosis in Neurodegenerative Disorders. **Antioxidants & Redox Signaling**, [s. l.], v. 37, n. 1–3, p. 150–170, 2022. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2021.0218>>

DE CÁSSIA DA SILVEIRA E SÁ, R.; ANDRADE, L.; DOS REIS BARRETO DE OLIVEIRA, R.; DE SOUSA, D. A Review on Anti-Inflammatory Activity of Phenylpropanoids Found in Essential Oils. **Molecules**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 1459–1480, 2014. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1420-3049/19/2/1459>>

DE JESUS, E. N. S.; TAVARES, M. S.; BARROS, P. A. C.; MILLER, D. C.; DA SILVA, P. I. C.; FREITAS, J. J. S.; DE LIMA, A. B.; SETZER, W. N.; DA SILVA, J. K. R.; FIGUEIREDO, P. L. B. Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory activities of the curzerene type essential oil of *Eugenia uniflora* from Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 317, p. 116859, 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874123007274>>

DE LIMA, M. N. N.; GUIMARÃES, B. A.; DE CASTRO, A. L. S.; RIBEIRO, K. B.; MILLER, D. C.; DA SILVA, P. I. C.; FREITAS, J. J. S.; DE LIMA, A. B.; SETZER, W. N.; DA SILVA, J. K. R.; MAIA, J. G. S.; FIGUEIREDO, P. L. B. 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**, [s. l.], v. 300, p. 115720, 2023. a.
- DE LIMA, M. N. N.; GUIMARÃES, B. A.; DE CASTRO, A. L. S.; RIBEIRO, K. B.; MILLER, D. C.; DA SILVA, P. I. C.; FREITAS, J. J. S.; DE LIMA, A. B.; SETZER, W. N.; DA SILVA, J. K. R.; MAIA, J. G. S.; FIGUEIREDO, P. L. B. 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**, [s. l.], v. 300, p. 115720, 2023. b. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874122007590>>
- DE VERAS, B. O.; MOURA, G. M. de M.; BARROS, A. V. De; VANUSA DA SILVA, M.; ASSIS, P. A. C. De; AGUIAR, J. C. R. de O. F. De; NAVARRO, D. M. do A. F.; XIMENES, R. M.; WANDERLEY, A. G.; OLIVEIRA, M. B. M. De; LOPES, A. C. de S. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of essential oil of the leaves of *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. from the semi-arid region of Northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 317, p. 116858, 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874123007262>>
- DOS SANTOS SOUZA, T. G.; DA SILVA, M. M.; FEITOZA, G. S.; DE MELO ALCÂNTARA, L. F.; DA SILVA, M. A.; DE OLIVEIRA, A. M.; DE OLIVEIRA FARIAS DE AGUIAR, J. C. R.; DO AMARAL FERRAZ NAVARRO, D. M.; DE AGUIAR JÚNIOR, F. C. A.; DA SILVA, M. V.; CHAGAS, C. A. Biological safety of *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. Fixed oil: Cytotoxicity, acute oral toxicity, and genotoxicity studies. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 272, p. 113941, 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874121001677>>
- FERNANDES, L. M. P.; CARTÁGENES, S. C.; BARROS, M. A.; CARVALHEIRO, T. C. V. S.; CASTRO, N. C. F.; SCHAMNE, M. G.; LIMA, R. R.; PREDIGER, R. D.; MONTEIRO, M. C.; FONTES-JÚNIOR, E. A.; CUNHA, R. A.; MAIA, C. S. F. Repeated cycles of binge-like ethanol exposure induce immediate and delayed neurobehavioral changes and hippocampal dysfunction in adolescent female rats. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 350, p. 99–108, 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432818302225>>
- FREITAS, M. A.; VASCONCELOS, A.; GONÇALVES, E. C. D.; FERRARINI, E. G.; VIEIRA, G. B.; CÍCIA, D.; COLA, M.; CAPASSO, R.; DUTRA, R. C. Involvement of Opioid System and TRPM8/TRPA1 Channels in the Antinociceptive Effect of *Spirulina platensis*. **Biomolecules**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 592, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2218-273X/11/4/592>>
- GALVÃO, F. S.; DA ROCHA, C. Q.; MONTEIRO, O. S.; FIGUEIREDO, P. L. B.; SANTOS, P. V. L.; MAIA, J. G. S. Seasonal and Circadian Evaluation of the Essential Oil of

- Dizygostemon riparius (Plantaginaceae), a Wild Flavoring Herb from East Maranhão, Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, [s. l.], v. 20, n. 8, 2023. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.202300864>>
- GAMMOH, O. S.; QNAIS, E.; BSEISO, Y.; ALROSAN, K.; ALQUDAH, A. Evaluation of the antinociceptive effect of valerian and hops combination in experimental animal models: Involvement of the opioid system. **Heliyon**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. e14185, 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405844023013920>>
- GENCER, A.; GUNDUZ, O.; ULUGOL, A. Involvement of Descending Serotonergic and Noradrenergic Systems and their Spinal Receptor Subtypes in the Antinociceptive Effect of Dipyrone. **Drug Research**, [s. l.], v. 65, n. 12, p. 645–649, 2015. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0034-1398550>>
- GHASEMI, M. Nitric oxide: Antidepressant mechanisms and inflammation. In: [s.l: s.n.]. p. 121–152.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.
- GOMES, N. M.; REZENDE, C. M.; FONTES, S. P.; MATHEUS, M. E.; FERNANDES, P. D. Antinociceptive activity of Amazonian Copaiba oils. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 109, n. 3, p. 486–492, 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874106004168>>
- GREEN, L. C.; WAGNER, D. A.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPER, P. L.; WISHNOK, J. S.; TANNENBAUM, S. R. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 126, n. 1, p. 131–138, 1982. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/000326978290118X>>
- GRESSLER, L. T.; RIFFEL, A. P. K.; PARODI, T. V.; SACCOL, E. M. H.; KOAKOSKI, G.; DA COSTA, S. T.; PAVANATO, M. A.; HEINZMANN, B. M.; CARON, B.; SCHMIDT, D.; LLESUY, S. F.; BARCELLOS, L. J. G.; BALDISSEROTTO, B. Silver catfish *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. **Aquaculture Research**, [s. l.], v. 45, n. 6, p. 1061–1072, 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/are.12043>>
- HALL, A. P.; ELCOMBE, C. R.; FOSTER, J. R.; HARADA, T.; KAUFMANN, W.; KNIPPEL, A.; KÜTTLER, K.; MALARKEY, D. E.; MARONPOT, R. R.; NISHIKAWA, A.; NOLTE, T.; SCHULTE, A.; STRAUSS, V.; YORK, M. J. Liver Hypertrophy: a review of adaptive (adverse and non-adverse) changes--conclusions from the 3rd International ESTP

Expert Workshop. **Toxicologic Pathology**, [s. l.], v. 40, n. 7, p. 971–994, 2012.

HALL, J. C.; HEEL, K. A.; PAPADIMITRIOU, J. M.; PLATELL, C. The pathobiology of peritonitis. **Gastroenterology**, [s. l.], v. 114, n. 1, p. 185–196, 1998. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508598706468>>

HALLIWELL, B. Reactive Oxygen Species and the Central Nervous System. **Journal of Neurochemistry**, [s. l.], v. 59, n. 5, p. 1609–1623, 1992. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-4159.1992.tb10990.x>>

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition Reviews**, [s. l.], v. 70, n. 5, p. 257–265, 2012. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nutritionreviews/article-lookup/doi/10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x>>

HAMURA, H.; YOSHIDA, M.; SHIMIZU, K.; MATSUKURA, T.; SUZUKI, H.; NARITA, M.; SUZUKI, T. Antinociceptive Effect of the Combination of Pentazocine With Morphine in the Tail-Immersion and Scald-Pain Tests in Rats. **The Japanese Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 83, n. 4, p. 286–292, 2000. Disponível em: <<http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/jjp/83.286?from=CrossRef>>

HESS, S.; PADOANI, C.; SCORTEGANHA, L. C.; HOLZMANN, I.; MALHEIROS, A.; YUNES, R. A.; DELLE MONACHE, F.; DE SOUZA, M. M. Assessment of Mechanisms Involved in Antinociception Caused by Myrsinoic Acid B. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 209–215, 2010. Disponível em: <http://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/33/2/33_2_209/_article>

JERÔNIMO, L. B.; DE ARAÚJO, J. A. C.; DA SILVA, J. K. R.; MOURÃO, R. H. V.; SETZER, W. N.; FIGUEIREDO, P. L. B. Seasonality's Effects on the Chemical Composition and Antiradical Capacity of the Floral Essential Oil of *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen Cultivated in the Brazilian Amazon. **Horticulturae**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 925, 2024. a. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2311-7524/10/9/925>>

JERÔNIMO, L. B.; LIMA SANTOS, P. V.; PINTO, L. C.; DA COSTA, J. S.; ANDRADE, E. H. de A.; SETZER, W. N.; DA SILVA, J. K. do R.; DE ARAÚJO, J. A. C.; FIGUEIREDO, P. L. B. *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen essential oils: Chemical composition, antioxidant, and cytotoxic activities. **Biochemical Systematics and Ecology**, [s. l.], v. 112, p. 104775, 2024. b. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0305197823001928>>

KARL, T.; PABST, R.; VON HÖRSTEN, S. Behavioral phenotyping of mice in pharmacological and toxicological research. **Experimental and Toxicologic Pathology**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 69–83, 2003. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0940299304701451>>

KAISTER, M. P.; MACHADO, N. J.; SILVA, H. B.; NUNES, A.; ARDAIS, A. P.; SANTANA, M.; BAQI, Y.; MÜLLER, C. E.; RODRIGUES, A. L. S.; PORCIÚNCULA, L. O.; CHEN, J. F.; TOMÉ, Â. R.; AGOSTINHO, P.; CANAS, P. M.; CUNHA, R. A. Caffeine acts through neuronal adenosine A_{2A} receptors to prevent mood and memory dysfunction triggered by chronic stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 112, n. 25, p. 7833–7838, 2015. Disponível em: <<https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1423088112>>

KOSTER, R.; ANDERSON, M. DE BEER, E. Acetic Acid for Analgesic Screening. **Federation Proceedings**, [s. l.], v. 18, p. 412–417, 1959.

KUMAR, L.; CHHIBBER, S.; HARJAI, K. Zingerone Suppresses Liver Inflammation Induced by Antibiotic Mediated Endotoxemia through Down Regulating Hepatic mRNA Expression of Inflammatory Markers in Pseudomonas aeruginosa Peritonitis Mouse Model. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 9, p. e106536, 2014.

LEAN, J.; WARRILOW, D. A. Simulation of the regional climatic impact of Amazon deforestation. **Nature**, [s. l.], v. 342, n. 6248, p. 411–413, 1989. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/342411a0>>

LI, Z.; WANG, Y.; ZHAO, J.; ZHANG, H. Dieckol attenuates the nociception and inflammatory responses in different nociceptive and inflammatory induced mice model. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s. l.], v. 28, n. 9, p. 4891–4899, 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1319562X21004812>>

LOUREIRO, R. S. De; SARAIVA, J. M.; SARAIVA, I.; SENNA, R. C.; FREDÓ, A. S. Estudo dos eventos extremos de precipitação ocorridos em 2009 no estado do Pará. **Revista Brasileira de Meteorologia**, [s. l.], v. 29, n. spe, p. 83–94, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-77862014000500009&lng=pt&tlng=pt>

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A. Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. **Química Nova**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 595–622, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000300006&lng=en&nrm=iso&tlng=en>

MALAFOLIA, V.; ILARI, S.; VITIELLO, L.; TENTI, M.; BALZANI, E.; MUSCOLI, C.; RAFFAELI, W.; BONCI, A. The Interplay between Chronic Pain, Opioids, and the Immune System. **The Neuroscientist**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 613–627, 2022. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/10738584211030493>>

MALIK, T. G.; SAHU, L. K.; GUPTA, M.; MIR, B. A.; GAJBHIYE, T.; DUBEY, R.;

- CLAVIJO MCCORMICK, A.; PANDEY, S. K. Environmental Factors Affecting Monoterpene Emissions from Terrestrial Vegetation. **Plants**, [s. l.], v. 12, n. 17, p. 3146, 2023.
- MANSIKKA, H.; ERBS, E.; BORRELLI, E.; PERTOVAARA, A. Influence of the dopamine D2 receptor knockout on pain-related behavior in the mouse. **Brain Research**, [s. l.], v. 1052, n. 1, p. 82–87, 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006899305008875>>
- MARX, H. E.; O'LEARY, N.; YUAN, Y.; LU-IRVING, P.; TANK, D. C.; MÚLGURA, M. E.; OLMSTEAD, R. G. A molecular phylogeny and classification of Verbenaceae. **American Journal of Botany**, [s. l.], v. 97, n. 10, p. 1647–1663, 2010. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3732/ajb.1000144>>
- MOHAMMADHOSSEINI, M.; FREZZA, C.; VENDITTI, A. An overview of the genus *Aloysia Paláu* (Verbenaceae): Essential oil composition , ethnobotany and biological activities. **Natural Product Research**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 1–17, 2022.
- MORONI, P.; O'LEARY, N.; FILLOY, J. Species delimitation in the *Aloysia gratissima* complex (Verbenaceae) following the phylogenetic species concept. **Botanical Journal of the Linnean Society**, [s. l.], v. 180, n. 2, p. 193–212, 2016. Disponível em: <<https://academic.oup.com/botlinnean/article-lookup/doi/10.1111/boj.12369>>
- MWOBOBIA, R. M.; KANUI, T. I.; ABELSON, K. S. P. Investigation of noradrenergic receptor system in anti-nociception using formalin test in the naked mole rat (*Heterocephalus glaber*). **Heliyon**, [s. l.], v. 6, n. 10, p. e05216, 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405844020320594>>
- O'LEARY, N.; LU-IRVING, P.; MORONI, P.; SIEDO, S. Taxonomic Revision of *Aloysia* (Verbenaceae, Lantaneae) In South America 1. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, [s. l.], v. 101, n. 3, p. 568–609, 2016. Disponível em: <<http://www.bioone.org/doi/10.3417/2013015>>
- OBESE, E.; BINEY, R. P.; HENNEH, I. T.; ANOKWAH, D.; ADAKUDUGU, E. A.; WOODE, E.; AMEYAW, E. O. Antinociceptive effect of the hydroethanolic leaf extract of *Calotropis procera* (Ait) R. Br. (Apocynaceae): Possible involvement of glutamatergic, cytokines, opioidergic and adenosinergic pathways. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 278, p. 114261, 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874121004888>>
- OCAÑA, M.; CENDÁN, C. M.; COBOS, E. J.; ENTRENA, J. M.; BAEYENS, J. M. Potassium channels and pain: present realities and future opportunities. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 500, n. 1–3, p. 203–219, 2004. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299904007356>>

OECD. **Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method**. [s.l.] : OECD, 2002.

Disponível em: <https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-423-acute-oral-toxicity-acute-toxic-class-method_9789264071001-en>

OKAMOTO, N.; WATANABE, K.; IKENOUCI, A.; KOROGI, Y.; YOSHIMURA, R. L-Arginine-Nitric Oxide Pathway and Neural Networks in Major Depression. **Psychiatria Danubina**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 102–103, 2022.

PACE, S.; ROSSI, A.; KRAUTH, V.; DEHM, F.; TROISI, F.; BILANCIA, R.; WEINIGEL, C.; RUMMLER, S.; WERZ, O.; SAUTEBIN, L. Sex differences in prostaglandin biosynthesis in neutrophils during acute inflammation. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 3759, 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-017-03696-8>>

PAGANELLI, F.; MOTTOLA, G.; FROMONOT, J.; MARLINGE, M.; DEHARO, P.; GUIEU, R.; RUF, J. Hyperhomocysteinemia and Cardiovascular Disease: Is the Adenosinergic System the Missing Link? **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 1690, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/4/1690>>

PANCZYK, K.; GOŁDA, S.; WASZKIELEWICZ, A.; ZELASZCZYK, D.; GUNIA-KRZYŻAK, A.; MARONA, H. Serotonergic System and Its Role in Epilepsy and Neuropathic Pain Treatment: A Review Based on Receptor Ligands. **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 21, n. 13, p. 1723–1740, 2015. Disponível em: <<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1381-6128&volume=21&issue=13&spage=1723>>

PARODI, T. V.; GRESSLER, L. T.; SILVA, L. de L.; BECKER, A. G.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Chemical composition of the essential oil of *Aloysia triphylla* under seasonal influence and its anaesthetic activity in fish. **Aquaculture Research**, [s. l.], v. 51, n. 6, p. 2515–2524, 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/are.14594>>

PEÑA-BAUTISTA, C.; TIRLE, T.; LÓPEZ-NOGUEROLAS, M.; VENTO, M.; BAQUERO, M.; CHÁFER-PERICÁS, C. Oxidative Damage of DNA as Early Marker of Alzheimer's Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 24, p. 6136, 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/20/24/6136>>

PERTOVAARA, A. The noradrenergic pain regulation system: A potential target for pain therapy. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 716, n. 1–3, p. 2–7, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299913001659>>

QURESHI, I. Z.; RAZZAQ, A.; NAZ, S. S. Testing of acute and sub-acute toxicity profile of

- novel naproxen sodium nanoformulation in male and female mice. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [s. l.], v. 150, p. 105650, 2024. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0273230024000916>>
- RÁCZ, I.; ZIMMER, A. Animal Models of Nociception. In: **Standards of Mouse Model Phenotyping**. [s.l.] : Wiley, 2006. v. 53p. 221–235.
- RAMIREZ, M. R.; GUTERRES, L.; DICKEL, O. E.; DE CASTRO, M. R.; HENRIQUES, A. T.; DE SOUZA, M. M.; BARROS, D. M. Preliminary Studies on the Antinociceptive Activity of *Vaccinium ashei* Berry in Experimental Animal Models. **Journal of Medicinal Food**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 336–342, 2010. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2009.0079>>
- REYNOSO, M. A.; VERA, N.; ARISTIMUÑO, M. E.; DAUD, A.; SÁNCHEZ RIERA, A. Antinociceptive activity of fruits extracts and “arroe” of *Geoffroea decorticans* (chañar). **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 145, n. 1, p. 355–362, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874112007994>>
- SALVEMINI, D.; DOYLE, T. M. Targeting neuroinflammation in neuropathic pain and opioid use. **Journal of Experimental Medicine**, [s. l.], v. 220, n. 2, 2023. Disponível em: <<https://rupress.org/jem/article/220/2/e20221244/213777/Targeting-neuroinflammation-in-neuropathic-pain>>
- SANTOS, F. M.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; ALVARENGA, A. A.; ALVES, M. N.; DUARTE, M. C. T.; SARTORATTO, A. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from the leaves and flowers of *Aloysia gratissima*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 583–588, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722013000400015&lng=en&tlng=en>
- SANTOS, P. V. L.; DA CRUZ, E. de N. S.; NUNES, J. de A.; MOURÃO, R. H. V.; DO NASCIMENTO, W. M. O.; MAIA, J. G. S.; FIGUEIREDO, P. L. B. Seasonal Influence on Volatile Composition of *Psidium friedrichsthalianum* Leaves, Sampled in the Brazilian Amazon. **Horticulturae**, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 768, 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2311-7524/9/7/768>>
- SANTOS, P. V. L.; JERÔNIMO, L. B.; RIBEIRO, W. S. C.; LOPES, G. M.; LEÃO NETO, J. H. de C.; DA SILVA, H. B. O.; DA SILVA, P. I. C.; SILVA, R. C.; DA SILVA, J. K.; FREITAS, J. J. S.; MOURÃO, R. H. V.; SETZER, W. N.; MAIA, J. G. S.; FIGUEIREDO, P. L. B. Exploring the impact of seasonal variations on the chemical composition, antinociceptive, and anti-inflammatory properties of *Pogostemon heyneanus* Benth. essential oil. **Frontiers in**

- Pharmacology**, [s. l.], v. 15, 2024. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2024.1336878/full>>
- SCAPINELLO, J.; MÜLLER, L. G.; SCHINDLER, M. S. Z.; ANZOLLIN, G. S.; SIEBEL, A. M.; BOLIGON, A. A.; NIERO, R.; SARAIVA, T. E. S.; MAUS, N. P.; BETTI, A. H.; OLIVEIRA, J. V.; MAGRO, J. D.; DE OLIVEIRA, D. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Philodendron bipinnatifidum* Schott ex Endl (Araceae). **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 236, p. 21–30, 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874118318117>>
- SHARIFI-RAD, J.; SUREDA, A.; TENORE, G.; DAGLIA, M.; SHARIFI-RAD, M.; VALUSSI, M.; TUNDIS, R.; SHARIFI-RAD, M.; LOIZZO, M.; ADEMILUYI, A.; SHARIFI-RAD, R.; AYATOLLAHI, S.; IRITI, M. Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. **Molecules**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 70, 2017. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1420-3049/22/1/70>>
- SOUZA, A. A.; WIEST, J. M. Atividade anti-bacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) Tronc. (garupá, erva-santa), usada na medicina tradicional no Rio Grande do Sul - Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 23–29, 2007.
- SOUZA, G. E. P.; FERREIRA, S. H. Blockade by antimacrophage serum of the migration of PMN neutrophils into the inflamed peritoneal cavity. **Agents and Actions**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 97–103, 1985.
- SOUZA, M. A.; SCAPINELLO, J.; GUZATTI, J. G. G.; SCATOLIN, M.; MARTELLO, R.; SCHINDLER, M. S. Z.; CALISTO, J. F. F.; ALVES, B.; MORGAN, L. V.; OLIVEIRA, J. V.; MAGRO, J. D.; MÜLLER, L. G. Antinociceptive effect and mechanism of supercritical carbon dioxide extract of *Aloysia gratissima* leaves in mice. **Biomedical Journal**, [s. l.], v. 44, n. 6, p. S63–S72, 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2319417020300962>>
- TAKEDA, M.; TSUBOI, Y.; KITAGAWA, J.; NAKAGAWA, K.; IWATA, K.; MATSUMOTO, S. Potassium Channels as a Potential Therapeutic Target for Trigeminal Neuropathic and Inflammatory Pain. **Molecular Pain**, [s. l.], v. 7, p. 1744-8069-7–5, 2011. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1186/1744-8069-7-5>>
- UD-DAULA, A. F. M. S.; DEMIRCI, F.; ABU SALIM, K.; DEMIRCI, B.; LIM, L. B. L.; BASER, K. H. C.; AHMAD, N. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from leaves, aerial stems, basal stems, and rhizomes of *Etlingera fimbriobracteata* (K.Schum.) R.M.Sm. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 84, p. 189–198, 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669015306208>>

- VIANA BARBOSA, L. G.; SILVA DE JESUS, E. N.; BOTELHO JERÔNIMO, L.; SILVA DA COSTA, J.; CUNHA SILVA, R.; SETZER, W. N.; R. DA SILVA, J. K.; DA SILVA FREITAS, J. J.; B. FIGUEIREDO, P. L. *Siparuna guianensis* Essential Oil Antitumoral Activity on Ehrlich Model and Its Effect on Oxidative Stress. **Chemistry & Biodiversity**, [s. l.], v. 20, n. 10, 2023. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.202301120>>
- VINCENZI, F.; PASQUINI, S.; BOREA, P. A.; VARANI, K. Targeting Adenosine Receptors: A Potential Pharmacological Avenue for Acute and Chronic Pain. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 22, p. 8710, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/21/22/8710>>
- WINTERBOURN, C. C.; GUTTERIDGE, J. M. C.; HALLIWELL, B. Doxorubicin-dependent lipid peroxidation at low partial pressures of O₂. **Journal of Free Radicals in Biology & Medicine**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 43–49, 1985. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0748551485900285>>
- WOODE, E.; AMEYAW, E.; BOAKYE-GYASI, E.; ABOTSI, W. M. Analgesic effects of an ethanol extract of the fruits of *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich (Annonaceae) and the major constituent, xylopic acid in murine models. **Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 291, 2012. Disponível em: <<https://journals.lww.com/10.4103/0975-7406.103251>>
- ZAPATA-MORALES, J. R.; ALONSO-CASTRO, A. J.; DOMÍNGUEZ, F.; CARRANZA-ÁLVAREZ, C.; ISIODIA-ESPINOZA, M.; HERNÁNDEZ-MORALES, A.; SOLORIO-ALVARADO, C. The antinociceptive effects of a standardized ethanol extract of the *Bidens odorata* Cav (Asteraceae) leaves are mediated by ATP-sensitive K⁺ channels. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 207, p. 30–33, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874117313387>>
- ZENI, A. L. B.; ZOMKOWSKI, A. D. E.; DAL-CIM, T.; MARASCHIN, M.; RODRIGUES, A. L. S.; TASCA, C. I. Antidepressant-like and neuroprotective effects of *Aloysia gratissima*: Investigation of involvement of l-arginine-nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 137, n. 1, p. 864–874, 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874111004843>>

ANEXOS I



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 "AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aloysia oblongeolata*", registrada com o nº 03/2023, sob a responsabilidade de PEDRO IURI CASTRO DA SILVA - 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	06/2023 à 06/2024
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogêneo / <i>Mus musculus</i> / Swiss
Nº de animais	285
Peso/Idade	30-40g / 30 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério do Instituto Evandro Chagas

Belém, 06 de dezembro de 2023.

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

ANEXOS II



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 "PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aloysia oblancheolata* Moldenke", registrada com o nº 07/2023, 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	05/2023 à 05/2024
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico / <i>Rattus norvegicus</i> / Wistar
Nº de animais	60
Peso/Idade	150-220g / 5 a 7 semanas
Sexo	Machos
Origem	Biotério do Instituto Evandro Chagas

Belém, 07 de junho de 2023.

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

ANEXOS III



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

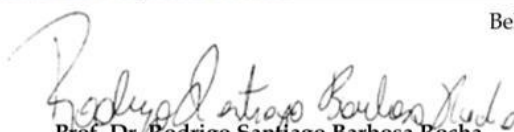
ANEXO III

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aloysia oblongeolata* Moldenke**", registrada com o nº 07/2023, 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. Assim como a solicitação adicional foi aprovada *Ad referendum* em 22/01/2024.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	05/2023 à 10/2024
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico / <i>Rattus norvegicus</i> / Wistar
Nº de animais	40
Peso/Idade	150-220g / 5 a 7 semanas
Sexo	Machos
Origem	Biotério do Instituto Evandro Chagas

Belém, 23 de janeiro de 2024.


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

ANEXOS IV

MEMORIAL

➤ Trabalhos Publicados em Periódicos

SANTOS, Paulo Vinicius L. et al. Seasonal Changes in *Aloysia oblongeolata* Moldenke Essential Oil. *Frontiers in Chemistry*, v. 12, 2025.

SANTOS, Paulo Vinicius L. et al. Seasonal Influence on Volatile Composition of *Psidium friedrichsthalianum* Leaves, Sampled in the Brazilian Amazon. *Horticulturae*, v. 9, n. 7, p. 768, 2023.

GALVÃO, F. S., da ROCHA, C. Q., MONTEIRO, O. S., FIGUEIREDO, P. L. B., **SANTOS, P. V. L.**, & Maia, J. G. S. Seasonal and Circadian Evaluation of the Essential Oil of *Dizygostemon Riparius* (Plantaginaceae), a Wild Flavoring Herb from East Maranhão, Brazil. *Chemistry & Biodiversity*, 20(8), e202300864, 2023.

SANTOS, Paulo Vinicius Lima et al. Exploring the impact of seasonal variations on the chemical composition, antinociceptive, and anti-inflammatory properties of *Pogostemon heyneanus* Benth. essential oil. *Frontiers in Pharmacology*, v. 15, p. 1336878, 2024.

JERÔNIMO, Lucas Botelho et al. *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen essential oils: chemical composition, antioxidant, and cytotoxic activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 112, p. 104775, 2024.

DE LIMA, Maria Nancy Norat et al. Seasonal influence on the essential oil chemical composition of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth.: a valuable plant from Marajó, Brazil. *Frontiers in Chemistry*, v. 12, p. 1397634, 2024.

NUNES, JENNIFER DE A. et al. Seasonal variation on chemical composition and in vitro cytotoxic and anti-inflammatory activities of *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh essential oil from Amazon. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 121, p. 105001, 2025.

➤ Trabalhos Publicados em Anais de Eventos

SANTOS, Paulo Vinicius L., LIMA, M.M., CHAVES, E.T., da SILVA, P.I.C., ANDRADE, E.H.d.A., MAIA, J.G.S., FIGUEIREDO, P.L.B., Composição química e atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Aloysia ob lanceolata* Moldenke com ocorrência na Amazônia Paraense. **11º Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais**, Campinas-SP, 2023.

Jeronimo, L.B., **SANTOS, Paulo V.L.**, PINTO, L. C., FIGUEIREDO, P.L.B., Composição química, capacidade antioxidante e efeito citotóxico do óleo essencial das inflorescências de *Acmella oleracea* (Asteraceae). **73ª Congresso Nacional de Botânica**, Belém-PA, 2023.

FERREIRA, M.C.d.S., **SANTOS, Paulo V.L.**, MONTEIRO, J.S., Ascomicetos assexuais associados a substratos vegetais em cinco municípios do estado do Pará, Brasil. **73ª Congresso Nacional de Botânica**, Belém-PA, 2023.

LIMA, M.M., **SANTOS, Paulo V.L.**, NUNES, J.A., GOMES, G.T., FERREIRA, M.C.d.S., Jeronimo, L.B., COSTA, J.S., FIGUEIREDO, P.L.B., Influência sazonal na composição química do óleo essencial de *Aloysia ob lanceolata* Moldenke. com ocorrência na amazônia paraense. **62º Congresso Brasileiro de Química**, Natal-RN, 2023.

LIMA, M.M., **SANTOS, Paulo V.L.**, da CRUZ, E.d.N.S., FIGUEIREDO, P.L.B., Óleos essenciais das folhas e galhos de *Aloysia ob lanceolata* Moldenke com ocorrência na Amazônia paraense. In: **Anais da Semana do Químico ABQ/PA**. Belém-PA, Hotel Beira Rio, 2023.

SANTOS, P.V.L et al. variação sazonal do óleo essencial de *Psidium acutangulum* e *Psidium friedrichsthalianum*: uma abordagem quimiométrica. **Anais da Semana do Químico ABQ/PA**. Belém-PA, Hotel Beira Rio, 2023.