



**RENORBIO**  
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

CELYANE ALVES PIAULINO

**INVESTIGAÇÃO COMPARATIVA DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO 2-FENILETANOL LIVRE E COMPLEXADO COM B-CICLODEXTRINA EM MODELOS DE NOCICEPÇÃO AGUDA E DOR NEUROPÁTICA**

TERESINA – PI

2017

CELYANE ALVES PIAUILINO

**INVESTIGAÇÃO COMPARATIVA DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO 2-FENILETANOL LIVRE E COMPLEXADO COM B-CICLODEXTRINA EM MODELOS DE NOCICEPÇÃO AGUDA E DOR NEUROPÁTICA**

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia pela Rede Nordeste de Biotecnologia RENORBIO – Ponto Focal UFPI, como parte dos requisitos para a obtenção do título de doutor em biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida

TERESINA-PI

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

## FOLHA DE APROVAÇÃO – DEFESA DE TESE

ALUNO: CELYANE ALVES PIAUILINO

TÍTULO DO PROJETO: "Investigação comparativa da atividade antinociceptiva do 2-feniletanol livre e complexado com  $\beta$ -ciclodextrina em modelos de nociceção aguda e dor neuropática"

PROFESSORA ORIENTADORA: Profa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida

BANCA EXAMINADORA:	CONCEITO	ASSINATURA
Profa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida - UFPI (Presidente)	<u>Satisfatório</u>	<u>[Assinatura]</u>
Profa. Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira - UFPI (Examinadora)	<u>Satisfatório</u>	<u>[Assinatura]</u>
Profa. Dra. Maria das Graças Freire de Medeiros - UFPI (Examinadora)	<u>Satisfatório</u>	<u>[Assinatura]</u>
Profa. Dra. Mariana Helena Chaves – UFPI (Examinadora)	<u>satisfatório</u>	<u>[Assinatura]</u>
Profa. Dra. Flávia Almeida Santos – UFC (Examinadora)	<u>satisfatório</u>	<u>[Assinatura]</u>

DATA DA AVALIAÇÃO: 11 de outubro de 2017.

HORÁRIO: 14h30

LOCAL: Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais (NPPM)

Esta Tese é dedicada a Deus e a meus pais, Gilberto e Rosário com muito amor, admiração e gratidão.

## Agradecimentos

---

- ✓ Em primeiro lugar a DEUS pelo dom da vida e pela dádiva de me proporcionar a realização desse sonho e a nossa Mãe Maria Santissima, Senhora do Rosário, a qual foi o templo de Deus aqui na terra e que por interseção dEla, Jesus Cristo nos concede Amor, Paz e Bênçãos.
- ✓ Agradeço em especial a minha orientadora profa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida, por ter acreditado em mim desde o começo até aqui. E principalmente pela amizade, carinho, risos e incentivo em todos estes anos de NPPM.
- ✓ Ao Programa de Pós – Graduação em Biotecnologia (RENORBIO), à Coordenação Geral e ao Ponto Focal na Universidade Federal do Piauí (UFPI).
- ✓ A Universidade Federal do Piauí e a CAPES/FAPEPI pelo apoio financeiro.
- ✓ Ao professor Dr. Damião Pergentino de Sousa, por ter cedido a substância teste para a realização da pesquisa.
- ✓ Ao professor Dr Sidney Gonçalo de Lima, coordenador do Laboratório de Geoquímica Orgânica – LAGO/UFPI pela complexação da substância o qual me proporcionou conhecer pessoas especiais como meus amigos Raiane e Marcio.
- ✓ A professora Dra Flavia Almeida, por ter cedido o espaço em seu laboratório na Universidade Federal do Ceará para a realização de parte dos experimentos, e ter aceitado participar da minha banca de defesa.
- ✓ A professora Dra Ana Amélia Melo Cavalcante chefe do laboratório LAPGENIC, pela colaboração em seu laboratório nos dados experimentais e por ter me proporcionado conhecer pessoas tão especiais como a Rosália, Ag-Anne, Antonielly, Tony, Willians, Ricardo, Junior e Leane
- ✓ Aos professores/pesquisadores do NPPM, Profa. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira, Profa. Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira, Prof. Dr. Fernando Aécio de Amorim Carvalho, Prof. Dr. Francisco de Assis

Oliveira e em especial a Profa. Dra. Salete Maria da Rocha Ciprinano Brito, pessoa que me acolheu na iniciação científica no NPPM, me acompanhou até o mestrado, porém sem deixar de mencionar que durante esta caminhada foi uma grande amiga e uma mãe dedicada seguindo comigo até o termino desse doutorado sempre com uma palavra de conforto e torcida constante.

- ✓ Aos meus irmãos Sergio, Denilson, Décio e Zezinho pelos momentos de alegrias proporcionadas e em especial a Vivi, que mesmo nas brigas contínuas, é a minha melhor amiga e companheira. Obrigada por não me deixar só em nenhum minuto na alegria, tristeza, angustia e muitos trabalhos laboratotiais de fim de semana.
- ✓ Aos meus amigos/irmãos do Laboratório de Dor, meus queridos companheiros de bancada, Flavinha, Everton e Marluce, companheiros de todas as horas, e não menos importantes, Carlos, Deyna, Larissa, Wilmara, Elza, Lucio, Joemir, Tamnata, Ana Rita, Laílson, Laercio, Lízia, Jullian, Hilda e Yuri.
- ✓ Aos meus amigos do NPPM que tornaram-se tão queridos nesta caminhada. Quantas vezes vinhamos para o Laboratório, mesmo sem ter nada pra fazer, apenas pra matar a saudade do povo todo. Nanda CBC, Luciane, Iris, Ana Flavia, Josynaria, Renata, Layane, Nayra, Benedito, Bruno, Francilene, Joseane, Gabriela, Rodrigo, Aline, Ilmara, Fabiana, Marcio e Douglas.
- ✓ Aos meus amigos e Funcionários do NPPM, Patricia, Sr Carlos, Jôse, Kalina, Rosilda, Gleyce e Adeline pela amizade sem compromisso.
- ✓ Ao meu Amor, Tiago Linus, pessoa de coração enorme, companheiro em todas as horas do meu dia, e quem foi peça fundamental para que esta tese fosse concretizada. Obrigada vida, nunca duvivei que você fosse minha outra metade.

## Resumo

---

PIAUILINO, C. A. **Investigação comparativa da atividade antinociceptiva do 2-feniletanol livre e complexado com  $\beta$ -ciclodextrina em modelos de nocicepção aguda e dor neuropática.** 2017, 190p. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia pela Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Ponto Focal Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina, 2017.

O 2-Feniletanol (2-FE) é um álcool aromático, derivado de óleos essenciais. O óleo essencial de rosas pode conter mais de 60% de 2-FE em sua composição e efeitos como antioxidante e antinociceptivo. Diante do exposto, o objetivo do estudo foi a investigação comparativa do potencial antinociceptivo do 2-Feniletanol e do 2-Feniletanol complexado com  $\beta$ -ciclodextrina (2-FECD) em modelos de dor aguda e neuropática, bem como os possíveis mecanismos de ação envolvidos no efeito farmacológico observado. O 2-FE e 2-FECD foram avaliados pelo teste de formalina, capsaicina e glutamato, atividade motora (Rota rod) e atividade locomotora espontânea (campo aberto). A atividade oxidante/antioxidante do 2-FE e 2-FECD foi medida em *Saccharomyces cerevisiae*. A neuropatia aguda e crônica foi observada pelo modelo de lesão parcial do nervo ciático (LPNC). A avaliação aguda foi realizada no 8º dia de cirurgia após o tratamento com 2 FE e 2-FECD (50, 100 e 200 mg/kg, via oral) e morfina (5mg/kg, via sub cutânea), pelo teste de von frey e acetona. Na avaliação crônica, três grupos foram tratados com 2-FE e 2-FECD nas doses de 50, 100 ou 200 mg/kg ou pregabalina na dose de 10 mg/kg, via oral. No 1º grupo os tratamentos ocorreram 8 dias antes e 8 dias após a LPNC. O 2º grupo os tratamentos ocorreram 24hs após a LPNC e seguidos por 8 dias e o 3º grupo foi tratado a partir do 4º dia após a LPNC e continuado por mais 8 dias. No soro sanguíneo foi quantificado TBARS, GSH e SOD. O 2-FE apresentou efeitos apenas na 2ª fase do teste de formalina e nos testes de capsaicina, glutamato. Não teve efeito no teste de rota rod, porém mostrou efeito no campo aberto. O 2-FECD foi significativo em todos os testes, não mostrou efeito no campo aberto e rota rod. No teste com *Saccharomyces cerevisiae*, 2-FE e 2-FECD apresentou efeitos sobre a inibição de crescimento. Nos testes neuropáticos o 2-FE e 2-FECD tiveram efeitos apenas 24h após a cirurgia e a partir do 4º dia de cirurgia nos dois testes. O 2-FECD teve efeito em todas as avaliações observadas, nas três doses testadas. O 2-FE e 2-FECD elevou os níveis de GSH nas três doses, nos três testes realizados e SOD foi elevado apenas no 4º dia de neuropatia na dose de 100mg/kg (2-FE) e 50 mg/kg (2-FECD) e diminuição nos níveis de TBARS nas três avaliações observadas.

Palavras-Chave: 2-FE; complexo de inclusão; antinociceptivo; antialodínico; antioxidante.

## Abstract

---

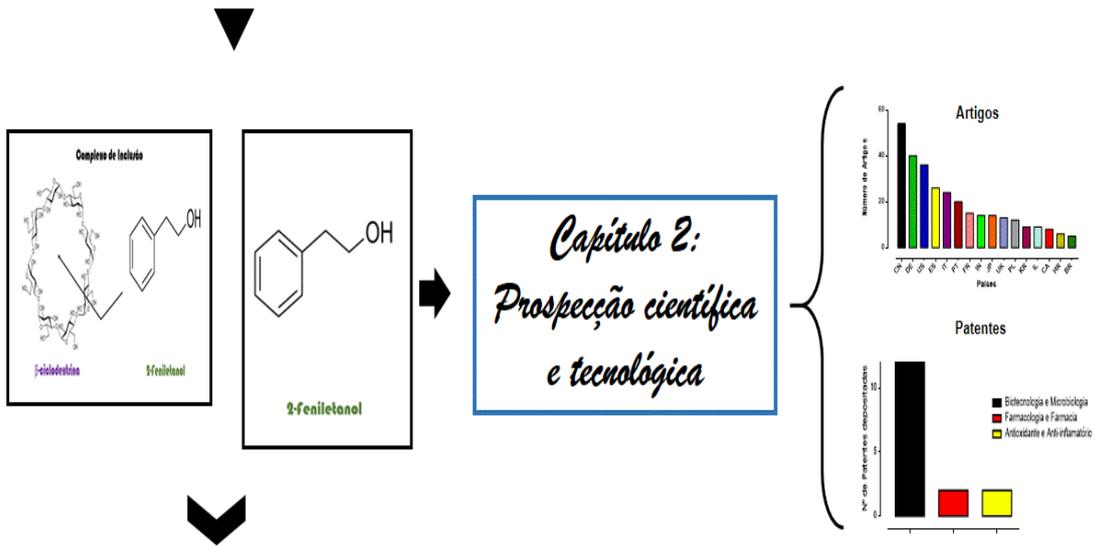
**PIAUILINO, C. A. Comparative investigation of the antinociceptive activity of free and complexed 2-phenylethanol with  $\beta$ -cyclodextrin in models of acute nociception and neuropathic pain.** Doctoral thesis. Postgraduate Program in Biotechnology by the Northeast Network of Biotechnology - RENORBIO, Focal Point Federal University of Piauí - UFPI, Teresina, 2017.

2-Phenylethanol (2-FE) is an aromatic alcohol derived from essential oils. The essential oil of roses may contain more than 60% of 2-FE in its composition and effects as antioxidant and antinociceptive. The objective of the study was the comparative investigation of the antinociceptive potential of 2-phenylethanol and 2-phenylethanol complexed with  $\beta$ -cyclodextrin (2-FECD) in acute and neuropathic pain models, as well as the possible mechanisms of action involved observed pharmacological effect. The 2-FE and 2-FECD were evaluated by the formalin, capsaicin and glutamate test, motor activity (Rota rod) and spontaneous locomotion (open field) activity. The oxidant / antioxidant activity of 2-FE and 2-FECD was measured in *Saccharomyces cerevisiae*. Acute and chronic neuropathy was observed by the partial sciatic nerve injury (LPNC) model. The acute evaluation was performed on the 8th postoperative day after treatment with 2-FE and 2-FECD (50, 100 and 200 mg / kg, oral) and morphine (5 mg / kg, subcutaneous route) and acetone. In the chronic evaluation, three groups were treated with 2-FE and 2-FECD at doses of 50, 100 or 200 mg / kg or pregabalin at a dose of 10 mg / kg orally. In the 1st group the treatments occurred 8 days before and 8 days after the LPNC. The second group of treatments occurred 24 hours after the LPNC and followed for 8 days and the 3rd group was treated from the 4th day after the LPNC and continued for another 8 days. TBARS, GSH and SOD were quantified in blood serum. 2-FE showed effects only in the 2nd phase of the formalin test and in the capsaicin and glutamate tests. It had no effect on the rotarod test, but showed an effect in the open field. The 2-FECD was significant in all tests, showed no effect on open field and rotarod. In the test with *Saccharomyces cerevisiae*, 2-FE and 2-FECD showed effects on growth inhibition. In the neuropathic tests 2-FE and 2-FECD had effects only 24 hours after surgery and from the 4th day of surgery in both tests. The 2-FECD had effect in all the evaluations observed, in the three doses tested. 2-FE and 2-FECD elevated GSH levels in the three doses in all three tests and SOD was elevated only on the 4th day of neuropathy at the dose of 100 mg / kg (2-FE) and 50 mg / kg (2-FECD) and decrease in TBARS levels in the three evaluations observed.

Keywords: 2-FE; inclusion complex; antinociceptive; antiallodynic; antioxidant.

# RESUMO GRÁFICO

## Capítulo 1: Revisão de Literatura



## Parte experimental



## Capítulo 3: Atividade Antinociceptiva

## Capítulo 4: Atividade Antialodínica

## Sumário

---

LISTA DE FIGURAS .....	13
LISTA DE TABELAS .....	16
Lista de Acrônimos e Abreviaturas.....	17
INTRODUÇÃO GERAL A TESE .....	20
1 INTRODUÇÃO.....	21
2 OBJETIVOS .....	24
3 CAPITULO 1: REVISÃO DE LITERATURA .....	25
3.1 Dor .....	26
3.1.1 Classificação da dor .....	27
3.1.2 Neurofisiologia da dor.....	29
3.1.3 Projeções das fibras nociceptivas .....	34
3.1.4 Mediadores e nociceptores envolvidos na nocicepção .....	36
3.1.5 Dor aguda.....	40
3.1.6 Dor neuropática .....	44
3.1.7 Radicais livres, especies reativas de oxigenio e estresse oxidativo .....	47
3.1.8 Tratamento farmacológico da dor.....	50
3.2 Produtos naturais no tratamento da dor .....	52
3.3 2- Feniletanol.....	54
3.4 Ciclodextrinas.....	55
REFERENCIAS.....	58
CAPITULO 2: Prospecção científica e tecnológica do estudo das atividades biológicas e aplicações do 2-Feniletanol.....	75
1 INTRODUÇÃO .....	78
2 MÉTODO DE PESQUISA E CRITÉRIOS DE SELEÇÃO.....	81
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	82
3.1 Prospecção científica .....	82
3.2 Aplicações biotecnológicas e farmacológicas do 2-FE .....	84
3.2.1 Principais utilizações biotecnológicas.....	84
3.2.2 Aplicações farmacológicas .....	86
3.3 Prospecção Tecnológica .....	92
4 CONCLUSÕES PARCIAIS.....	103
REFERENCIAS.....	104
CAPITULO 3: Investigação comparativa da atividade antinociceptiva do 2-Feniletanol livre e complexado com $\beta$ -ciclodextrina em modelos de nocicepção aguda .....	106
1 INTRODUÇÃO .....	109

2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	111
2.1 Drogas e reagentes .....	111
2.2 Obtenção do 2-FE e 2-FECD .....	111
2.3 Animais.....	111
2.4 Avaliação da atividade antinociceptiva .....	112
2.4.1 Teste de formalina.....	112
2.4.2 Teste de capsaicina.....	113
2.4.3 Teste do glutamato.....	113
2.5 Avaliação da atividade motora .....	113
2.5.1 Teste do Rota rod.....	113
2.5.2 Teste do campo aberto.....	114
2.6 Análise estatística.....	114
3 RESULTADOS .....	115
3.1 Avaliação da atividade antinociceptiva .....	115
3.1.1 Efeito do 2-FE e 2-FECD na nocicepção induzida por formalina .....	115
3.1.2 Efeito do 2-FE e 2-FECD na nocicepção induzida por capsaicina .....	116
3.1.3 Efeito do 2-FE e 2-FECD na nocicepção induzida por glutamato .....	116
3.2.4 Efeito do 2-FE e 2-FECD na performance motora no modelo do rota rod .....	117
3.2.5 Efeito do 2-FE e 2-FECD na atividade locomotora espontanea no modelo do campo aberto.....	118
4 DISCUSSÃO .....	120
5 CONCLUSÕES PARCIAIS.....	124
REFERÊNCIAS.....	125

CAPITULO 4: Investigação comparativa da atividade antialodínica mecânica e térmica e atividade antioxidante do 2-Feniletanol livre e complexado com  $\beta$ -ciclodextrina em modelo de dor neuropática .....

.....	129
1 INTRODUÇÃO .....	132
2 MATERIAS E MÉTODOS.....	137
2.1 Drogas e reagentes .....	137
2.2 Animais.....	137
2.3 Obtenção do 2-FE e 2-FECD .....	138
2.4 Avaliação neuropática .....	138
2.4.1 Lesão parcial do nervo ciático (LPNC) .....	138
2.4.2 Análise da hipernocicepção mecânica através dos filamentos de Von frey .....	139
2.4.3 Teste de sensibilidade térmica ao frio .....	139
2.4.4 Teste da hipernocicepção aguda .....	140
2.4.5 Teste da hiperocicepção crônica .....	140
2.5 Atividade antioxidante .....	141
2.5.1 Teste com <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	141
2.5.1.1 Linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	141

2.5.1.2 Meios de cultura .....	142
2.5.1.3 Avaliação da capacidade antioxidante do 2-FE e 2-FECD frente as danos provocados pelo peróxido de hidrogênio .....	142
2.6 Determinação dos níveis de TBARS no soro sanguíneo em animais com neuropatia induzida por LPNC e tratados com 2-FE e 2-FECD .....	144
2.7 Determinação da GSH no soro sanguíneo em animais com neuropatia induzida por LPNC e tratados com 2-FE E 2-FECD.....	144
2.8 Determinação da SOD no soro sanguíneo em animais com neuropatia induzida por LPNC e tratados com 2-FE e 2-FECD .....	144
2.9 Análise estatística .....	145
3 RESULTADOS .....	146
3.1 Avaliação neuropática aguda .....	146
3.1.1 Efeito da administração aguda do 2-FE e 2-FECD na alodinia mecânica provocada pela neuropatia induzida por LPNC.....	146
3.1.2 Efeito da administração aguda do 2-FE e 2-FECD na alodinia térmica a frio provocada pela neuropatia induzida por LPNC .....	147
3.2 Avaliação neuropática crônica.....	148
3.2.1 Efeito da administração crônica do 2-FE e 2-FECD na alodinia mecânica provocada pela neuropatia induzida por LPNC oito dias antes da ligadura e continuado por mais oito dias .....	148
3.2.2 Efeito da administração crônica do 2-FE e 2-FECD na alodinia mecânica provocada pela neuropatia induzida por LPNC quatro dias após a ligadura do nervo e continuado por mais oito dias .....	150
3.2.3 Efeito da administração crônica do 2-FE e 2-FECD na alodinia mecânica provocada pela neuropatia induzida por LPNC vinte quatro horas após a ligadura do nervo e continuado por mais oito dias .....	152
3.3 Avaliação antioxidante.....	154
3.3.1 Efeito antioxidante do 2-FE e 2-FECD frente aos danos oxidativos induzidos pelo peróxido de hidrogênio em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	154
3.3.2 Atividade do 2-FE e 2-FECD sobre a concentração de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em modelo de hipersensibilidade induzida por LPNC .....	155
3.3.3 Atividade do 2-FE e 2-FECD sobre a concentração de GSH em modelo de hipersensibilidade induzida por LPNC .....	157
3.3.4 Atividade do 2-FE e 2-FECD sobre a concentração de SOD em modelo de hipersensibilidade induzida por LPNC .....	160
4 DISCUSSÃO .....	164
5 CONCLUSÕES PARCIAIS.....	175
REFERÊNCIAS.....	176
APÊNDICE .....	187
CONCLUSÕES FINAIS .....	188
PERSPECTIVAS .....	190

## Lista de Figuras

Figura 1.1 - Processamento sensorial da dor. Etapas: transdução (a), transmissão (b), modulação (c) e precepção (d) .....	31
Figura 1.2 - Controle do Portão da Dor .....	32
Figura 1.3 - Via descendente da nocicepção e principais áreas envolvidas no controle descendente da dor .....	33
Figura 1.4 - Projeções centrais do Nociceptor.....	34
Figura 1.5 - Transdução química da dor aguda.....	41
Figura 1.6 - Neuroinflamação espinhal e sensibilização central.....	45
Figura 1.7 -Via de formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e defesa antioxidante endógena .....	48
Figura 1.8 - Estresse oxidativo/nitrosativo após lesão do nervo.....	50
Figura 1.9 - Fórmula estrutural do 2-Feniletanol .....	54
Figura 1.10 - Representação das estruturas químicas das $\alpha$ , $\beta$ e $\gamma$ -ciclodextrinas.....	56
Figura 1.11 - Representação da forma estrutural de ciclodextrinas .....	57
Figura 2.1 - Fórmula estrutural do 2-Feniletanol .....	78
Figura 2.2 - Via de Ehrlich na formação do 2-Feniletanol a partir do aminoácido Fenilalanina .....	80
Figura 2.3 - Evolução anual das publicações referente ao 2-FE nas bases de dados <i>Science Direct</i> , <i>Web of Science</i> , <i>PubMed</i> e <i>Scopus</i> .....	84
Figura 2.4 - Numero de publicações nos países referente ao 2-FE nas bases de dados <i>Science Direct</i> , <i>Web of Science</i> , <i>PubMed</i> e <i>Scopus</i> .....	85
Figura 2.5 - Numero de publicações do 2-FE referentes aos temas Biotecnologia e Aplicação em Microbiologia na base de dados <i>Web of Science</i> e <i>Scopus</i> .....	86
Figura 2.6 - Evolução anual das publicações referente ao 2-Feniletanol e Antioxidante e nas bases de dados <i>Science Direct</i> , <i>Web of Science</i> , <i>PubMed</i> e <i>Scopus</i> .....	91
Figura 2.7 - Evolução anual das publicações referente ao e Anti-inflamatório nas bases de dados <i>Science Direct</i> , <i>Web of Science</i> , <i>PubMed</i> e <i>Scopus</i> .....	92
Figura 2.8 - Número de patentes encontradas com o termo 2-Feniletanol sendo citado no título e resumo avaliadas nos campos Biotecnologia e aplicação em Microbiologia, Farmacologia e Farmácia e Antioxidante e Anti-inflamatório .....	99
Figura 2.9 - Aplicações do 2-Feniletanol .....	100
Figura 2.10 - Distribuição de depósitos de patentes sobre o 2-Feniletanol por país de origem.....	101
Figura 2.11 - Distribuição do número de pedidos de depósitos de patentes por códigos de classificação internacional .....	102
Figura 3.1 - Representação estrutural do 2-FE .....	110
Figura 3.2 - Efeito antinociceptivo do 2-FE (A) e 2-FECD (B) no teste de formalina em camundongos. ....	115

Figura 3.3 - Efeito do 2-FE (A) e 2-FECD (B) no teste de capsaicina em camundongos.....	116
Figura 3.4 - Efeito do 2-FE (A) e 2-FECD (B) no teste do glutamato em camundongos.....	117
Figura 3.5 - Efeito do 2-FE e 2-FECD sobre a atividade motora no teste do <i>rota rod</i> em camundongos.....	118
Figura 3.6 - E Efeito do 2-FE e 2-FECD sobre a atividade locomotora espontânea no teste de campo aberto em camundongos.....	119
Figura 4.1 - Representação estrutural do 2-FE .....	136
Figura 4.2 - Efeito da administração aguda do 2-FE (A) e 2-FECD (B) na alodinia mecânica induzida por LPNC.....	146
Figura 4.3 - Efeito da administração aguda do 2-FE (A) e 2-FECD (B) na alodinia térmica induzida por LPNC .....	147
Figura 4.4 - Efeito da administração crônica do 2-FE (A) e 2-FECD (B) na alodinia mecânica induzida por LPNC.....	148
Figura 4.5 - Efeito da administração crônica do 2-FE (A) e 2-FECD (B) na alodinia térmica induzida por LPNC .....	149
Figura 4.6 - Efeito da administração crônica do 2-FE (A) e 2-FECD (B) na alodinia mecânica induzida por LPNC.....	150
Figura 4.7 - Efeito da administração crônica do 2-FE (A) e 2-FECD (B) na alodinia termica induzida por LPNC .....	151
Figura 4.8 - Efeito da administração crônica do 2-FE (A) e 2-FECD (B) na alodinia mecânica induzida por LPNC.....	152
Figura 4.9 - Efeito da administração crônica do 2-FE (A) e 2-FECD (B) na alodinia termica induzida por LPNC .....	153
Figura 5.1 - Atividade oxidante do 2-FE (A) e 2-FECD (B) sobre os danos induzidos pelo peróxido de hidrogênio em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> no teste do disco central. ....	154
Figura 5.2 - Efeito do 2-FE (A) e 2-FECD (B) sobre a concentração de TBARS em soro sanguíneo de animais com alodinia mecânica induzida por LPNC .....	155
Figura 5.3 - Efeito do 2-FE (A) e 2-FECD (B) sobre a concentração de TBARS em soro sanguíneo de animais com alodinia mecânica induzida por LPNC .....	156
Figura 5.4 - Efeito do 2-FE (A) e 2-FECD (B) sobre a concentração de TBARS em soro sanguíneo de animais com alodinia mecânica induzida por LPNC .....	157
Figura 5.5 - Efeito do 2-FE (A) e 2-FECD (B) sobre a concentração de TBARS em soro sanguíneo de animais com alodinia mecânica induzida por LPNC.....	158
Figura 5.6 - Efeito do 2-FE (A) e 2-FECD (B) sobre a concentração de TBARS em soro sanguíneo de animais com alodinia mecânica induzida por LPNC .....	159
Figura 5.7 - Efeito do 2-FE (A) e 2-FECD (B) sobre a concentração de TBARS em soro sanguíneo de animais com alodinia mecânica induzida por LPNC .....	160
Figura 5.8 - Efeito do 2-FE (A) e 2-FECD (B) sobre a concentração de TBARS em soro sanguíneo de animais com alodinia mecânica induzida por LPNC .....	161

- Figura 5.9 - Efeito do 2-FE (A) e 2-FECD (B) sobre a concentração de TBARS em soro sanguíneo de animais com alodinia mecânica induzida por LPNC ..... 162
- Figura 5.10 - Efeito do 2-FE (A) e 2-FECD (B) sobre a concentração de TBARS em soro sanguíneo de animais com alodinia mecânica induzida por LPNC ..... 163

## Lista de Tabelas

---

Tabela 2.1 - Numero de artigos científicos publicados nas bases de dados <i>Science Direct</i> , <i>Web of Science</i> , <i>Pub Med</i> e <i>Scopus</i> por palavras-chave no período de 2005 a 2017 .....	83
Tabela 2.2 - Publicações envolvendo o descritor 2-Feniletanol e Antioxidante e 2-Feniletanol e Anti-inflamatório nas bases de dados <i>Science Direct</i> , <i>Web of Science</i> , <i>Pub Med</i> e <i>Scopus</i> no período de 2005 a 2017 .....	88
Tabela 2.3 - Patentes relacionadas às aplicações tecnológicas do uso do 2 Feniletanol usadas em Biotecnologia e aplicação em Microbiologia .....	93
Tabela 2.4 - Patentes relacionadas às aplicações tecnológicas do uso do 2-Feniletanol usadas em Farmacologia e Farmácia.....	97
Tabela 3.1 - Descrição das linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> usadas no estudo .....	141
Tabela 3.2 - Desenho experimental da avaliação dos efeitos do 2-FE e 2-FECD frente aos danos induzidos pelo H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	142

## Lista de Acrônimos e Abreviaturas

---

2-FE	2- Feniletanol
2-FECD	2-Feniletanol complexado com $\beta$ -ciclodextrina
5HT <sub>1</sub>	Receptor de serotonina tipo 1
5HT <sub>2</sub>	Receptor de serotonina tipo 2
5HT <sub>3</sub>	Receptor de serotonina tipo 3
5HT <sub>7</sub>	Receptor de serotonina tipo 7
ADH2	Álcool-desidrogenase de <i>S. cerevisiae</i>
ADP	Adenosina difosfato
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
AMPA	Ácido $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropriônico
ARO10	Descarboxilase do gene de fenilpiruvato
ASICs	Canais iônicos sensíveis a ácido
ATP	Adenosina trifosfato
BHE	Barreira hematoencefálica
C3CL1	Quimiocina
CA <sup>2+</sup>	Cálcio
CAT	Catalase
Cav	Canais de cálcio voltagem-dependente
CB1	Receptor canabinóide tipo 1
CB2	Receptor canabinoide tipo 2
CCI	Constricção crônica do nervo ciático
CCL2	Quimiocina
CCL21	Quimiocina
CCL21	Quimiocina
CD	Ciclodextrina
CG-EM	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
CTE	Cadeia de transporte de elétrons
Cu/ZnSOD	Superóxido dismutase cobre/zinco
DHAP sintase	3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate synthase
DII	Derwent Innovations Index
DNA	Ácido desoxi-ribonucleico
DTNB	Ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico)
E4P	Eritrose-4-fosfato
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EPO	European Patent Office
ERK	Quinase ativada por sinal extracelular
F6P	Frutose-6-fosfato
FDA	Food and Drug Administration
GAP	Gliceraldeído-fosfato
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
GSSG	Glutathione oxidada
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HO <sup>-</sup>	Ânion Hidroxila
iGluRs	Receptores ionotrópicos de glutamato

IL- 1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-12	Interleucina 12
IL-17	Interleucina 17
IL-1 $\alpha$	Interleucina 1 alfa
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 beta
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Intelectual
KA	kainato
LATIPAT	Banco Latinoamericano de Patentes
LPNC	Ligadura parcial do nervo ciático
MAPKs	Proteína quinase ativada por mitogenos
MDA	Malondildeído
MeOH	Metanol
mGluRs	Receptores metabotrópicos de glutamato
MMP9	Metaloproteinase 9
Mn/ZnSOD	Superóxido dismutase manganês/zinco
NaNO <sub>2</sub>	Nitrito de sódio
Nav	Canais de sódio voltagem dependente
Nav 1.7	Canais de sódio do gene SCN9A
Nav 1.8	Canais de sódio do gene SCN10A
Nav 1.9	Canais de sódio do gene SCN11
NF- $\kappa$ B	Fator nuclear kappa B
NGF	Fator de crescimento do nervo
NK-1	Receptores de neurocinina 1
NMDA	N-metil-D-aspartato
nNOS	Óxido nítrico sintase neuronal
NO	Óxido nítrico
Nrf2	Fator nuclear eritróide 2
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Ânion superóxido
OE	Óleos essenciais
OH <sup>-</sup>	Radical hidroxil
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
P2X	Receptor purinérgico tipo 2x
P2Y	Receptor purinérgico tipo 2y
p38 MAPK	Proteína quinase ativada por mitogenos p38
PAR2	Receptor ativado por proteases tipo 2
PAR4	Receptor ativado por proteases tipo 4
PARP	poli-ADP-ribose polimerase
PGE2	Prostaglandina E2
PKC	Proteína quinase C
PKC $\gamma$	Proteína quinase c gama
pps	fosfoenolpiruvato sintase
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SG	Substância gelatinosa
SNC	Sistema nervoso central
SNI	Lesão limitada do nervo espinhal
SNL	Ligadura do nervo espinhal

SNP	Sistema nervoso periférico
SOD	Superóxido dismutase
SPCD	Outros feixes do sistema pós-sináptico
TBA	Ácido tiobarbiturico
TBARS	Espécies reativas ao ácido tiobarbiturico
tktA	Transcetolase A de <i>E. coli</i>
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
TrKa	Receptores de tropomiosina quinase A
TRP	Receptor de potencial transitório
TRPA1	Receptor de potencial transitório do tipo anquirina 1
TRPV1	Receptor de potencial transitório do tipo vanilóide 1
TSM	Trato espinomesencefálico
TSR	Trato espinorreticular
TST	Trato espinotalâmico
USPTO	United States Patent and Trademark Office
VIP	Peptídeo intestinal vasoativo
WIPO	World Intellectual Property Organization
WNT	Ligandos de proliferação, diferenciação e migração
YEL	Meio líquido para sementeiras de leveduras
YEPD	Meio sólido para sementeiras de leveduras
$\alpha$ -CD	$\alpha$ -ciclodextrina
$\beta$ -CD	$\beta$ -ciclodextrina
$\gamma$ -CD	$\gamma$ -ciclodextrina

---

## **Introdução geral a tese**

## 1 INTRODUÇÃO

---

Pesquisas que se fundamentam na busca por novos medicamentos à base de produtos naturais ou melhoramento de fitoterápicos existentes se destacam atualmente e estão desempenhando um papel importante na atualidade. Estima-se que 50,6% de todos os novos fármacos aprovados pela FDA e organizações semelhantes estão envolvidos nos campos de produtos naturais (NEWMAN; CRAGG, 2016).

Desde o surgimento da humanidade as plantas mereceram destaque como fonte de substâncias medicinais, em larga escala e em várias terapias. Com o passar dos anos, os produtos naturais provenientes de plantas passaram a ser fonte praticamente de todos os medicamentos e, recentemente, continua a entrar em ensaios clínicos, a fornecer pistas para compostos que estejam sendo estudados e proporcionar, além da comprovação terapêutica, um saber popular vindo de diferentes culturas sendo os conhecimentos e práticas repassados entre gerações e comunidades (HARVEY; EDRADA-EBEL; QUINN, 2015; CITADINI-ZANETTE et al., 2017).

Contudo, informações técnicas sobre o uso de plantas medicinais ainda são insuficientes, de modo a garantir a qualidade, eficácia e segurança do uso das mesmas. Por outro lado, a introdução de um novo medicamento no mercado não é nada fácil. A cada ano, são lançados muitos medicamentos no mundo, contudo, a efetividade terapêutica desses produtos não é completamente defendida. Quando alcançam a fase clínica, a chance de aprovação é de 1:10. Nesse percurso, os investidores levam em média uma década e centenas de milhões de dólares para lançarem o medicamento no mercado (PÜNTMANN et al., 2010; MILNE, 2014).

Uma das alternativas para resolver o problema de altos custos na fabricação de novos fármacos e seguirem as regras de biodisponibilidades, seria o uso de tecnologias que proporcionem o aumento da eficiência dos fármacos com propriedades indesejáveis como também o estudo e aprimoramento de novas substâncias. Dessa forma, o uso de compostos com propriedades de liberação controlada como por exemplo as ciclodextrinas, podem promover o aumento da solubilidade e biodisponibilidade de fármacos

ou de substâncias em estudo pouco solúveis (SCHMIDT et al., 2014; GUEDES et al., 2008).

Dentre as substâncias pouco solúveis encontram-se os compostos voláteis, apresentando grande importância na indústria alimentícia, cosmética, farmacêutica e química e onde concentra a movimentação de mais de 20 bilhões de dólares (LEFFINGWELL, 2017). Entre as principais classes de compostos voláteis derivados de metabolismo secundário de plantas, estão os ésteres, terpenos, lactonas e o álcoois aromáticos dos quais o 2-Feniletanol (2-FE) é um dos mais relevantes (HAMILTON-KEMPFER et al., 1996; VALDUGA et al., 2010).

O 2-FE é extraído a partir de pétalas de rosa através de um processo de alto custo e baixo rendimento. O óleo essencial de rosas pode conter mais de 60% de 2-FE em sua composição, porém em muitos casos, as concentrações de óleo são muito baixas. Dessa forma, o 2-FE é produzido quimicamente, em torno de 10.000 ton, gerando resíduos nocivos, e para contornar esse problema diferentes estirpes de leveduras são utilizadas para uma produção em larga escala do 2-FE a partir de aminoácidos aromáticos como a L-fenilalanina por bioconversão (FEBRE, 1999; STARK et al., 2003).

O óleo essencial de *Rosa damascena* contém vários componentes químicos incluindo terpenos, glicosídeos, flavonoides e antocianinas. Entre os macros e micronutrientes, dezoito compostos representam mais de 95% dos óleos essenciais totais. Dentre os compostos encontrados estão  $\beta$ -citronelol, nonadecanos, geraniol, capferol e nerol, identificados como os principais componentes do óleo. As análises absolutas de *Rosa damascena* mostraram que o 2-FE compõe aproximadamente 79% dentre principais constituintes (OKA et al., 1998; KUMAR; SINGH; KAUL, 2006; ULUSOY; BOŞGELMEZ-TINAZ; SEÇILMIŞ-CANBAY, 2009; LOGHMANI-KHOUZANI; SABZI-FINI; SAFARI, 2007; YASSA et al., 2009).

Vários efeitos farmacológicos são encontrados na *R. damascena*, dentre eles encontram-se efeitos neurofarmacológicos como anticonvulsivante, antidepressivo, ansiolítico hipnótico e analgésicos; efeitos no sistema respiratório como broncodilatador; efeitos cardíacos, aumentando contração e frequência cardíaca; efeito anti-diabético, diminuindo a hiperglicemia; efeitos

antimicrobianos e antioxidante (NYEEM et al., 2006; GHOLAMHOSEINIAN et al., 2008; ULUSOY; BOŞGELMEZ-TINAZ; SEÇILMIŞ-CANBAY, 2009; RAKHSHANDAH et al., 2010; BOSKABADY et al., 2011; KUMAR et al., 2014).

Neste contexto, o 2-FE torna-se uma substância com interesse em potencial em diversos estudos farmacológicos devido o 2-FE na forma livre e complexada com ciclodextrinas (CDs) não apresentar nenhum estudo sobre seus efeitos em várias doenças, dentre elas a dor aguda e neuropática.

As CD são compostos capazes de formar complexos de inclusão, por promover alterações nas propriedades físicas e químicas nas substâncias complexadas. Moléculas hidrofóbicas ou parcialmente hidrofílicas possuem uma maior afinidade pela cavidade das CD em soluções aquosas. Por essa razão as CD são bastante utilizadas em aplicações farmacêuticas, devido possuírem propriedades de reduzir a volatilidade, aumentar a biodisponibilidade e a estabilidade na presença de luz, calor e condições oxidantes (BEKERS et al., 1991; ROCHA et al., 2012).

## 2 OBJETIVOS

---

### 2.1 Geral

- ✓ Investigar comparativamente o potencial/efeito antinociceptivo do 2-Feniletanol e do 2-Feniletanol complexado com  $\beta$ -ciclodextrina em modelos de dor aguda e neuropática, bem como suas respectivas atividades antioxidantes.

### 2.2 Específicos

- ✓ Avaliar o efeito antinociceptivo agudo do 2-Feniletanol (2-FE) e do 2-Feniletanol complexado com  $\beta$ -ciclodextrina (2-FECD) em modelos de nocicepção aguda (formalina, capsaicina, glutamato) em camundongos.
- ✓ Analisar o efeito de 2-FE e 2-FECD sobre a coordenação motora (teste do Rota rod) e capacidade locomotora espontânea (teste do campo aberto) em camundongos;
- ✓ Estuar o efeito do 2-FE e 2-FECD no modelo de dor neuropática (lesão parcial do nervo ciático- LPNC), avaliando ainda suas respectivas ações antioxidantes;
- ✓ Avaliar o efeito do 2-FE e 2-FECD nos testes/ensaios com *Saccharomyces cerevisiae*.

## Capítulo 1

---

### REVISÃO DE LITERATURA

---

## 3 REVISÃO DE LITERATURA

---

### 3.1 Dor

A dor é definida pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada ao dano tecidual real ou potencial, ou descrita em termos de tal dano”. Uma vez que a dor é algo subjetivo, também pode ser descrito como sendo “o que o paciente diz que é”. A dor pode ser um indicador de danos nos tecidos, como também pode ser originada na ausência de uma causa identificável. Com isso a dor no indivíduo se torna uma experiência multifatorial influenciada, dentre outras coisas, pela cultura, experiência anterior e capacidade de lidar com a dor, crença e humor (GEERTZEN et al., 2006).

As sensações de dor agem protegendo o organismo de danos em potencial, levando a uma ação defensiva pela transmissão de sinais sobre um possível evento nocivo à percepção consciente. As alterações na via de dor levam a hipersensibilidade de um modo que supera sua utilidade como um sistema de alerta agudo, tornando-o um sistema crônico e debilitante. Isso pode ser observado, em algum momento, como uma extensão do processo de cicatrização normal no qual o nervo provoca hiperatividade, resguardando a área lesionada (BASBAUM et al., 2009; SUKHOTINSKY; DEVOR, 2014).

Um exemplo é a queimadura solar que produz sensibilidade temporária na área afetada a estímulos inócuos como o toque ou calor, que por sua vez são sentidos como dolorosos (alodinia), ou estímulos normalmente dolorosos promovem sensibilidade maior, ocasionando dor intensa (hiperalgesia). Indivíduos que sofrem artrite, neuralgia pós-herpética ou câncer ósseo experimentam dor intensa, muitas vezes incessante de forma não apenas fisiológica mais psicologicamente debilitantes, dificultando a recuperação (BASBAUM et al., 2009).

A sinalização nociceptiva começa na periferia e a informação é processada e transmitida para as estruturas cerebrais superiores. A modulação da dor ocorre por vias localizadas no tronco cerebral levando a um alto nível de integração e intercomunicação com outras redes. Quando ocorrem mudanças

na modulação e processamento da dor, é gerada a dor crônica (SUKHOTINSKY; DEVOR, 2014).

De acordo com a Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor (SBED, 2017), até o momento não existem estudos epidemiológicos que englobe o país sobre o estudo da dor, e os dados existentes mostram apenas algumas cidades ou capitais brasileiras refletindo assim o nível de informações sobre o problema no país. Em geral, os dados existentes demonstram que a média da população que sofre ou se queixa de dor é cerca de 30%. Esse número se assemelha aos dados de países com Índice de Desenvolvimento Humano mais elevados (países desenvolvidos). O que muda no Brasil é o fato de o SUS não contemplar claramente essa questão, devido às restrições econômicas e políticas de saúde pública na questão da dor, englobando principalmente as doenças citadas pela OMS em que a dor é a dimensão agravante.

Levando em consideração que os 30% dos pacientes que procuram o SUS precisam ser reconhecidos, o problema se agrava pois os médicos e profissionais de saúde precisam ser preparados para reconhecê-los, tratá-los quando possível ou encaminhá-los a centros ou unidades especializadas para esse tipo de paciente. Alguns dos dados reportados sobre dor no Brasil, mostram que o estudo sobre a dor crônica em unidades do SUS varia de 30 a 50%, levando a várias razões para que a questão da dor não seja menosprezada e registrada como queixa significativa de uma parte considerável da população mundial e brasileira (SBED, 2017).

### 3.1.1 Classificação da dor

A dor pode ser classificada de várias formas, porém uma delas está relacionada com o tempo de duração, podendo ser denominada aguda ou crônica. Essas denominações são usadas para descrever a sensação e duração da dor, embora elas sejam difíceis de definir (KAPUR; LALA; SHAW, 2014). A dor aguda pode ser caracterizada em “dor de início recente e provável duração limitada” enquanto que a dor crônica persiste além do tempo de cura de uma lesão e frequentemente não possui causa claramente identificável. O ponto em que a dor aguda se torna crônica tem sido sugerido em cerca de 3

meses de duração da dor ou quando a dor não é mais associada ao dano inicial, sendo cada vez mais evidenciado que a dor aguda e crônica podem representar uma continuidade em vez de entidades distintas (GEERTZEN et al., 2006; WHITE; KEHLET, 2010; NIRAJ; ROWBOTHAM, 2011).

O tratamento da dor crônica pode ser difícil devido a esta condição ser complexa e influenciada pela composição genética, fatores fisiológicos e psicológicos. Psicofisiologicamente, além de subjetivo, a dor crônica envolve também processos fisiológicos subjacentes que envolvem o Sistema Nervoso Sensorial e Autônomo, além de catecolaminas circulantes, hormônios de resposta ao estresse e sistema imunológico via sinalização autonômica e hormonal (CHAPMAN; TUCKETT; SONG, 2008; KAPUR; LALA; SHAW, 2014).

A dor crônica compreende vários tipos de dor como a dor inflamatória após uma lesão tecidual (artrite), dor do câncer e a dor neuropática ocasionada após uma lesão do nervo, medula espinhal e lesão cerebral (trauma e acidente vascular cerebral). A dor crônica é caracterizada por hiperalgesia e alodinia mecânica, porém podem se manifestar também como dor ardente, parestesia (sensação de formigamento, cócegas, picadas e picadas) e disestesia (enfraquecimento ou perda de sentido, sensação de toque anormal) (BENNETT; XIE, 1988; STEIN; MILLAN; HERZ, 1988; KIM; CHUNG, 1992; HONORE *et al.*, 2000; SVENSSON; ZATTONI; SERHAN, 2007; XU *et al.*, 2013).

De modo geral, a dor crônica resulta de uma atividade neuronal alterada (plasticidade neuronal), que inclui a sensibilização de neurônios sensoriais periféricos primários nos gânglios da raiz dorsal e nervos trigêmeos e sensibilização de neurônios da medula espinhal, núcleo trigeminal, tronco cerebral e córtex. Essas sensibilizações no Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Periférico (SNP) levam ao indivíduo ter uma maior percepção de dor (WOOLF, 1983; GOLD; LEVINE; CORREA, 1998; ALEY; LEVINE, 1999; BASBAUM et al., 2009; OSSIPOV; DUSSOR; PORRECA, 2010).

### 3.1.2 Neurofisiologia da dor

A pele é o maior órgão sensorial em mamíferos, englobando todo o corpo, e innervada por várias classes morfológicas e fisiológicas distintas de neurônios aferentes primários. Estes neurônios, denominados de neurônios de primeira ordem no sistema somatossensorial, conduzem a informação sensorial nos alvos periféricos até o SNC por neurônios do ganglio da raiz dorsal. As informações da cabeça e rosto são transmitidas pelo nervos cranianos do ganglio trigêmeo (DJOUHRI, 2016).

Os neurônios aferentes primários são pseudo-unipolares, com axônio curto dividido em dois ramos, um axonal periférico projetando-se para alvos periféricos como a pele e um ramo central que termina no SNC. Estes aferentes primários fazem sinapses sobre neurônios de segunda ordem nos núcleos da coluna dorsal do tronco encefálico. O terminal do ramo periférico pode ser uma extremidade nervosa (nociceptores) ou associados a tecidos não neurais (folículos capilares) envolvidos na detecção e transdução de estímulos (mecânicos, químicos ou térmicos) em impulsos nervosos ou potenciais de ação. Com isso, a ativação dos neurônios sensoriais primários é o primeiro passo na percepção somatossensorial (DJOUHRI, 2016).

A neurofisiologia da dor compreende quatro etapas (Figura 1.1), no qual a primeira delas compreende a chamada transdução (a). Nesta etapa ocorre a transformação de estímulos nocivos em sinais elétricos nas vias nociceptivas periféricas. Os nociceptores reagem ao estímulo mecânico, térmico ou químico através de uma série de receptores, levando a despolarização das fibras e gerando um potencial de ação (WALKER, 2014).

A segunda etapa é a transmissão ou condução (b) no qual a atividade elétrica migra desde as fibras A $\delta$  e C dos neurônios aferentes primários até os centros nervosos superiores. Neste processo, os impulsos são enviados através dos nervos periféricos até o corno dorsal da medula espinhal, e as fibras fazem sinapses com os neurônios da substância cinzenta (JULIUS; BASBAUM, 2001; SCHAIBLE; RICHTER, 2004; LORENZ; COATES; KENT, 2011).

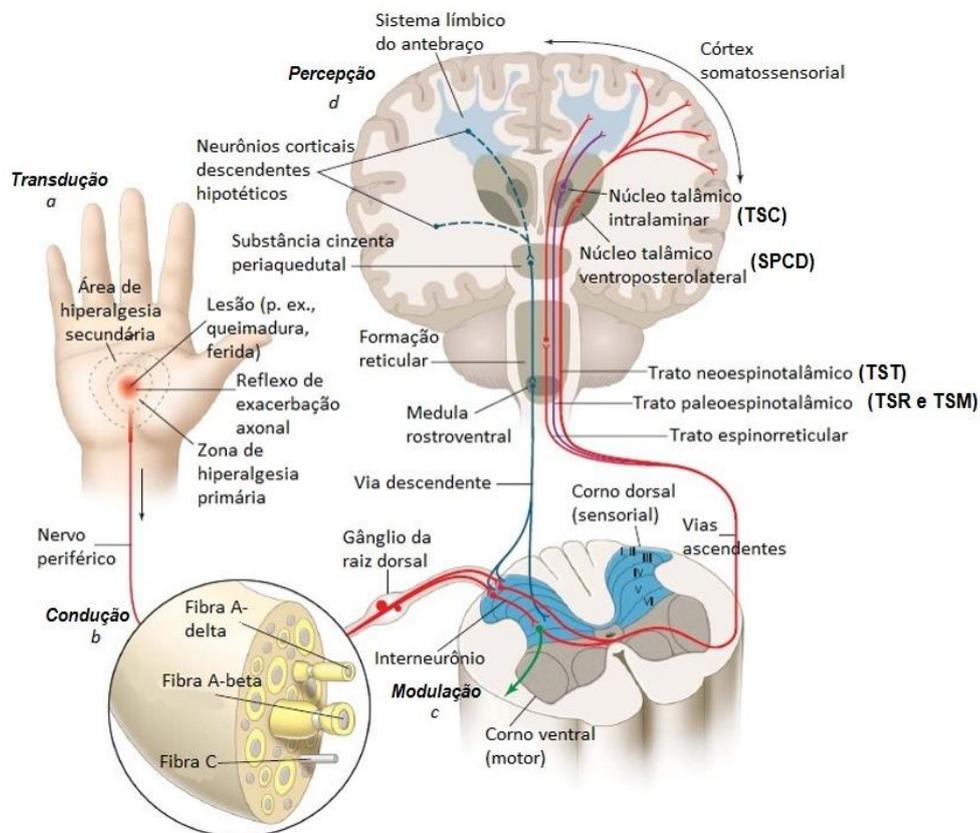
Os nociceptores são ativados quando as intensidades de estímulos atingem o intervalo nocivo, sugerindo que possuem propriedades biofísicas e moleculares seletivas, permitindo uma resposta a estímulos potencialmente prejudiciais. Existem duas classes principais de nociceptores: a primeira são os aferentes mielinizados de diâmetro médio denominados A $\delta$ , que medeiam a dor aguda, bem localizada ou rápida. Esses aferentes mielinizados diferem consideravelmente das fibras de diâmetros maiores e conduções rápidas denominadas de A $\beta$ , que respondem a estímulos mecânicos inócuos (toques leves). A segunda classe de nociceptores incluem fibras não mielinizadas de pequeno diâmetro que transmitem a dor mal localizada ou lenta, denominados de fibras C (MEYER et al., 2008; BASBAUM et al., 2009).

Os estímulos dolorosos codificados e transmitidos passam por uma modulação antes de chegar ao cérebro. A modulação (c) é caracterizada por alterações no sistema nervoso após um estímulo nocivo. Isso permite que os sinais recebidos no corno dorsal da medula espinhal sejam inibidos, modificando assim a transmissão do sinal para os centros superiores gerados após o estímulo nocivo. Existem seis feixes importantes para a condução do impulso doloroso até as estruturas supramedulares. Dentre esses feixes estão o trato espinotalâmico (TST), a via nociceptiva mais importante, onde apresenta duas subdivisões, a projeção lateral chamada de Neoespinotalâmica e a projeção mediana que juntamente com os tratos espinoreticular (TSR) e espinomesencefálico (TSM) formam o trato paleoespinotalâmico externo (BROOKS; TRACEY, 2005; WOOLF, 2011; KUMAR et al., 2014).

O trato paleoespinotalâmico comanda o comportamento de defesa e de fuga pela ação do sistema límbico (comportamentos afetivos da dor) e condução da dor lenta, pouco definida e de localidade difusa, devido a presença de neurônios mais curtos e com alta condutância sináptica e falta de somatopatia. Os outros feixes são o sistema pós-sináptico (SPCD) que se projetam para os núcleos da coluna dorsal, cujas células neuronais se projetam para o núcleo talâmico. A transmissão de dor por esses feixes podem acontecer de forma eventual, já que se ocorrer lesões na medula espinhal não alteram o limiar de dor. O trato espinocervical (TSC) se projeta até o tálamo contralateral e fazem parte do sistema lateral de condução da dor. Existem

evidências que este trato transmite informações rápida e de localização da dor por possuírem fibras longas, de condução rápida e com discreta organização somatotópica. E por fim o sistema ascendente multissimpático próprio espinhal que está localizado em várias partes da medula. (DRUMMOND, 2000; TEIXEIRA, 2009).

**Figura 1.1** - Processamento sensorial da dor. Etapas: transdução (a), transmissão (b), modulação (c) e percepção (d)



**Fonte:** Adaptado de [medicinanet.com](http://medicinanet.com) (2017)

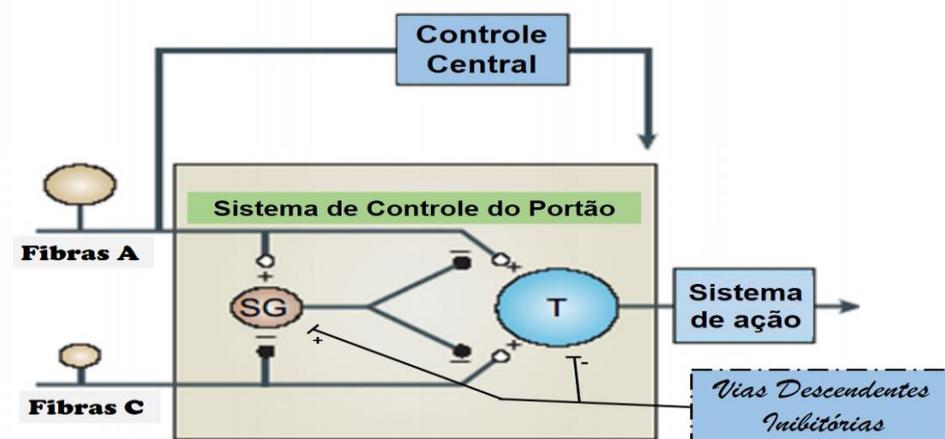
A percepção (d) é o processo de sinalização nociceptiva no encéfalo, refletindo o estímulo nociceptivo através de diferentes grupos funcionais de neurônios encefálicos e definem a percepção das características somáticas do estímulo pelos aspectos afetivos e cognitivos da sensação de dor (TRACEY; MANTYH, 2007).

Durante a transmissão sináptica, ocorre na substancia gelatinosa (SG) estímulos neurais entre neurotransmissores e seus receptores e um

mecanismo de modulação dos estímulos sensoriais tanto aferentes como eferentes. Esse mecanismo endógeno de modulação da dor é denominado de Controle do Portão da Dor (Figura 1.2) e tem um papel importante na sobrevivência de todas as espécies. O portão da dor está fechado quando nociceptores aferentes ativam interneurônios morfologicamente e neuroquimicamente distintos na SG, que por sua vez inibem os neurônios de projeção da medula espinhal ao transmitirem a mensagem de lesão ao cérebro. (MELZACK; WALL, 1965; PATEL, 2010; BRAZ et al., 2014).

A teoria do controle do portão da dor propõe que a transmissão do estímulo nocivo através das fibras nervosas A $\delta$  e C e do corno dorsal da medula espinhal possa ser reduzida ou bloqueada, fazendo com que a percepção da dor associada ao estímulo seja diminuída. A transmissão ocorre pela ativação das fibras A $\beta$ , associadas a mecanorreceptores de baixo limiar, que estimula um nervo inibitório na medula espinhal e inibe a transmissão sináptica (MENDELL, 2014).

**Figura 1.2** - Controle do Portão da Dor



Substância gelatinosa (SG); Transmissão (T).

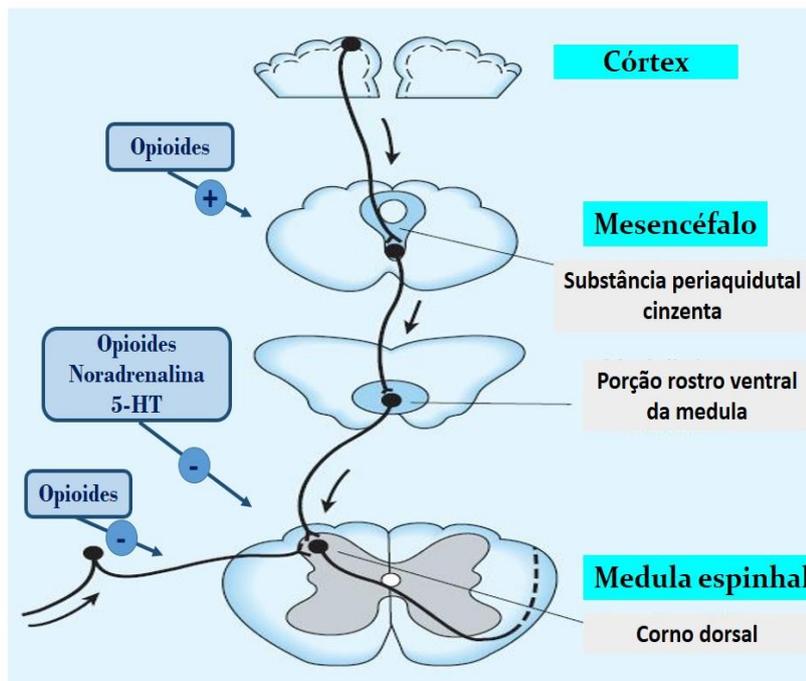
**Fonte:** Adaptado de Mendell (2014)

As vias descendentes (Figura 1.3) que retransmitem os sinais nos núcleos dos tronco encefálico, respectivamente na substância periaquidutal cinzenta e rostro ventral da medula, podem facilitar ou inibir a transmissão

nociceptiva na medula espinhal, dependendo dos transmissores e receptores envolvidos e do tipo e duração da lesão (HEINRICHER; TAVARES; LEITH, 2009).

As vias opióides e noradrenérgicas têm ações inibitórias enquanto que a serotonina tem efeitos bidirecionais com inibição via receptor 5HT<sub>1</sub> e ativação via receptores 5HT<sub>2</sub> e 5HT<sub>3</sub>. As vias moduladoras descendentes alteradas contribuem para a sensibilização central e podem ter papéis importantes nos estados de dor crônica. Por via periférica, tem se proposto que agonistas opióide  $\mu$  inibem a ativação da adenilato ciclase em neurônios aferentes primários, enquanto que agonistas opióides  $\delta$  e  $\kappa$  inibem a secreção de substâncias pró-inflamatórias por neurônios simpáticos. O córtex anterior, a amígdala e o hipotálamo transmitem sinais através destes núcleos do tronco encefálico, influenciando nas vias cognitivas e emocionais as experiências com a dor (KIM et al., 2006; TRACEY; MANTYH, 2007; HEINRICHER; TAVARES; LEITH, 2009; DENK; MCMAHON).

**Figura 1.3** - Via descendente da nociceção e principais áreas envolvidas no controle descendente da dor



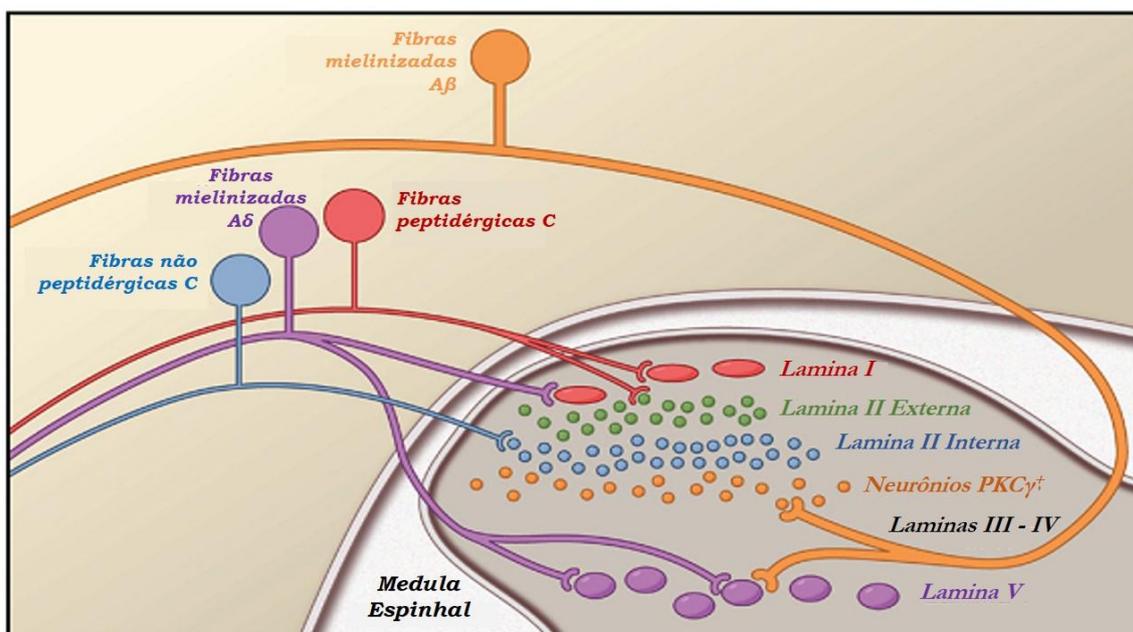
**Fonte:** Adaptado de basicmedicalkey.com (2016)

### 3.1.3 Projeções das fibras nociceptivas

Os corpos celulares dos nociceptores estão localizados do gânglio da raiz dorsal para o corpo e do gânglio trigeminal para o rosto, e possuem um ramo axonal periférico e central que inerva seu órgão alvo e a medula espinhal respectivamente. Estudos eletrofisiológicos subdividiram os nociceptores em três classes principais: Tipo I (HTM: nociceptores mecânicos de alto limiar) que respondem a estímulos mecânicos e químicos, mas possuem limiares de calor relativamente altos ( $>50^{\circ}\text{C}$ ), no entanto, se o estímulo de calor for mantido, esses aferentes respondem a temperaturas mais baixas. Os nociceptores do tipo II A $\delta$  têm um limiar de calor mais baixo, porém o limiar mecânico é muito mais alto. As fibras C não mielinizadas também são heterogêneas, que tal como os aferentes mielinizados, a maioria são polimodais, isto é, incluem uma população que é tanto sensível ao calor como a estímulos mecânicos. (MEYER et. al., 2008; PERL, 2007).

O corno dorsal da medula espinhal é organizado em laminae distintas em sua anatomia e eletrofisiologia onde as fibras dos nervos aferentes primários se projetam (Figura 1.4) (BASBAUM; JESSELL, 2009).

**Figura 1.4** - Projeções centrais do Nociceptor



**Fonte:** Adaptado de Basbaum et al. (2009)

Os nociceptores A $\delta$  se projetam para a lâmina I e mais profundamente para a lâmina V no corno dorsal da medula. O baixo limiar que condiciona as fibras A $\beta$ , responsáveis pelo toque leve, projetam-se para lâminas mais profundas (II, IV e V). Já os nociceptores C projetam suas fibras mais superficialmente nas lâminas I e II. Essa notável estratificação dos subtipos aferentes dentro do corno dorsal da medula é ainda mais destacada pelos distintos padrões e circuitos envolvidos com os nociceptores C (SNIDER; MCMAHON, 1998; BRAZ et al., 2005).

Um exemplo notável é que a maioria das fibras peptidérgicas terminam dentro da lamina I e na parte mais dorsal da lamina II. Em contrapartida, as não peptidérgicas desembocam na região média da lâmina II. A parte ventral da lâmina II é caracterizada pela presença de interneurônios excitatórios que expressam a isoforma da proteína quinase C gama (PKC $\gamma$ ), predominante nos neurônios aferentes mielinizados e envolvida na dor persistente induzida por lesão (MALMBERG et al., 1997; NEUMANN et al., 2008).

Consistentes com os estudos anatômicos, análises eletrofisiológicas demonstram que os neurônios dentro da lâmina I geralmente respondem a estimulação nociva através das fibras A $\delta$  e C, os neurônios das lâminas II e IV respondem primeiramente à estimulação inócua através das fibras A $\beta$  e os neurônios da lâmina V recebem uma entrada convergente de estímulos nocivos e inócuos através de entradas diretas (monossimpáticas) vias A $\delta$  e A $\beta$  e indiretas (polissimpáticas) via fibras C. Os últimos são chamados de neurônios de ampla gama dinâmica (WDR) na medida que respondem a uma ampla gama de intensidades de estímulo. Existem também uma entrada visceral para esses neurônios WDR, de modo que a convergência resultante de entradas somáticas e viscerais provavelmente contribui para o fenômeno da dor referida que é uma dor secundária a uma lesão no tecido visceral (por exemplo, angina no coração) referida a uma estrutura somática (por exemplo, dor no ombro) (BASBAUM et al., 2009).

### 3.1.4 Mediadores e nociceptores envolvidos na nocicepção

Os nociceptores respondem a estímulos mecânicos, térmicos e químicos nocivos através de uma variedade de receptores e a despolarização resulta em geração e propagação de potencial de ação em fibras A $\delta$  e fibras C. Além disso, a liberação de neuropeptídios como substância P e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) dos nervos aferentes primários contribui para a inflamação neurogênica. Na presença de lesão e inflamação de tecidos, os nociceptores no músculo e articulações se tornam sensibilizados principalmente durante os estímulos mecânicos. Neste estado de sensibilização periférica, os nervos aferentes reduzem seu limiar de ativação como uma resposta aprimorada aos estímulos supra limites e recrutamento previamente “silenciosos” (ASHMAWI; FREIRE, 2016; SCHAIBLE; EBERSBERGER; NATURA, 2011).

Os mediadores liberados a partir da lesão tecidual e/ou sinóvia inflamada incluindo quimiocinas pró-inflamatórias e citocinas como fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 17 (IL-17), neuropeptídios (por exemplo, peptídeo vasoativo intestinal (VIP) da sinóvia inflamada) e fator de crescimento do nervo (NGF) contribuem para sensibilização. A sensibilidade aumentada pode ocorrer em poucos minutos através de fosforilação e mudanças nas propriedades seletivas de entrada de canais iônicos ou em períodos mais prolongados como mudanças na expressão de receptores e canais iônicos (SCHAIBLE; EBERSBERGER; NATURA, 2011; DAWES et al., 2013; MALFAIT; SCHNITZER, 2013; ZHANG; REN; DUBNER, 2013).

Os receptores envolvidos na nocicepção periférica e na sensibilização após inflamação/lesão incluem uma gama de nociceptores. O receptor de potencial transitório (TRP) compreendem uma família de canais de cátions não seletivos que transduzem estímulos térmicos e químicos. O receptor de potencial transitório vanilóide 1 (TRPV1) é expresso por fibras nociceptivas nas articulações e os níveis aumentam após a inflamação. TRPV1 é ativado diretamente pela capsaicina ingrediente pungente derivado de pimentas do gênero *Capsicum spp*), calor nocivo (>43°C) e pH baixo no tecido inflamado e

indiretamente sensibilizado por mediadores inflamatórios como a bradicinina, prostaglandina E2 (PGE2) e NGF (SCHAIBLE; EBERSBERGER; NATURA, 2011; MCDOUGALL; LINTON, 2012; MALFAIT; SCHNITZER, 2013; FRIAS; MERIGHI, 2016).

Outro receptor importante é de potencial transitório anquirina 1 (TRPA1) é ativado por temperaturas frias, bradicinina e produtos químicos pungentes como óleo de mostarda e também podem contribuir para a dor inflamatória nas articulações. TRPA1 foi primeiramente caracterizado como um termorreceptor ativado por frio nocivo (abaixo de 17°C) e o seu envolvimento na alodinia a frio em diferentes patologias dolorosas tem sido enfatizado (STORY et al., 2003; MCDOUGALL; LINTON, 2012; SASAKI et al., 2014).

Os canais iônicos sensíveis a ácido (ASICs) são ativados pelo baixo pH extracelular durante os processos inflamatórios e podem ter um papel íntimo na dor isquêmica no músculo esquelético. Os receptores purinérgicos compreendem a família P2X de canais ionotrópicos e uma família P2Y de receptores acoplados a proteína G. A adenosina trifosfato (ATP) abre os canais P2Y e medeia a dor na contração muscular ou no estado inflamatório. Os receptores ativados por proteinases (PAR2 e PAR4) são expressos nas terminações aferentes primárias conjuntas. Ao invés de ser um receptor bloqueado por ligandos, as proteinases (por exemplo a triptase de mastócitos) ativam PARs específicos e isso altera a sinalização nociceptiva e contribuem para a sensibilização periférica (SCHAIBLE; EBERSBERGER; NATURA, 2011; MCDOUGALL; LINTON, 2012).

Os canais de sódio ativados por voltagem (Nav) são essenciais para a geração e propagação de potenciais de ação. Os subtipos de canais variam em sua estrutura, cinética, distribuição e sensibilidade à tetrodoxina. Os neurônios nociceptivos expressam principalmente Nav 1.7 (canais de sódio do gene SCN9A), Nav 1.8 (canais de sódio do gene SCN10A) e Nav 1.9 (canais de sódio do gene SCN11A), e esses canais modulam a excitabilidade e tem papel importante na sensibilidade à dor quanto em estados de doença específicas (WAXMAN, 2013).

Outro canal envolvido é o de cálcio do tipo T Cav 3.2, uma isoforma de Cav 3.2 de canais de cálcio ativados por baixa tensão, pertencente a uma

família de genes compostos por três membros, Cav 3.1, Cav 3.2 e Cav 3.3 e predominantes no corno dorsal da medula espinhal. Estes canais são ativados por baixas tensões e portanto sintonizadores importantes da excitabilidade celular. O canal de cálcio Cav 3.2 é considerado essencial para a excitabilidade de fibras A $\delta$  e estudos com knockout em Cav 3.2 resultou em comprometimento de excitabilidade de A $\delta$  (WANG; LEWIN, 2011; PEREZ, 2003).

Os receptores de glutamato, importantes não só na nocicepção mas também em muitas vias centrais, são compostos por duas famílias principais, os receptores ionotrópicos e receptores metabotrópicos de glutamato. Os receptores ionotrópicos (iGluRs) formam o poro do canal iônico que é ativado quando o glutamato se liga ao receptor. São compostos pelo receptor de N-Metil-D-Aspartato (NMDA), ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico (AMPA) e Kainato (KA) (ANGGONO; HUGANIR, 2012).

Em geral o receptor AMPA contribui principalmente para a transmissão sináptica e a plasticidade desencadeada por diferentes mecanismos enquanto que o receptor NMDA desempenha um papel crítico no desencadeamento da plasticidade, com potencialização a longo prazo. Os receptores KA, por outro lado, fazem apenas uma pequena contribuição para as respostas sinápticas, e isto pode ser devido a sua cinética lenta. Os receptores KA contribuem para uma transmissão sensorial em intensidades mais elevadas e a regulação da transmissão pré-sináptica (COLLINGRIDGE; BLISS, 1965; WU; KO; ZHUO, 2007; KOGA et al., 2015).

Os receptores metabotrópicos de glutamato (mGluRs) ativam indiretamente, canais iônicos da membrana plasmática através de uma cascata de sinalização que envolve proteínas G, tendo também sua participação na sinalização da dor. É um receptor abundantemente expresso nas camadas superficiais da medula espinhal e está intimamente envolvido na transcrição de genes e sinalização de cálcio independente dos receptores da membrana plasmática. Estudos recentes mostraram que após uma lesão no nervo, em um modelo de dor neuropática, ocorre um aumento acentuado da expressão de mGluR5 nas membranas nucleares da medula espinhal (HUBERT; PAQUET;

SMITH, 2001; SALT, 2002; O'MALLEY et al., 2003; PURGERT et al., 2014; ACHER; GOUDET, 2015; KOGA; LI; ZHUO, 2016; VINCENT et al., 2016).

O óxido nítrico (NO), não é um receptor de dor, mas possui um papel importante dentro do SN e sua função na sinalização neuronal. NO foi descoberto presente no SN após a descoberta de uma de suas enzimas sintetizadoras, a óxido nítrico sintase neuronal (nNOS). A geração de NO via nNOS é ativada a partir da ativação de receptores NMDA e foi uma das primeiras vias caracterizadas no cérebro, tornando-se uma importante molécula de sinalização dentro dos neurônios. O envolvimento do NO varia com a plasticidade sináptica e sua modulação está envolvida em muitas condições neurodegenerativas (GARTHWAITE; CHARLES; CHESS, 1988; BREDT et al., 1991; GARTHWAITE, 1991; NAKAMURA; LIPTON, 2008; HARDINGHAM; DACHTLER; FOX, 2013).

Os receptores colinérgicos, também possuem uma parcela de participação na nocicepção. A liberação de acetilcolina pela medula espinhal produz antinocicepção, levando a agonistas muscarínicos, nicotínicos e inibidores da colinesterase produzirem analgesia. Os anticolinesterásicos agem intensificando e prolongando a atividade analgésica de muitos fármacos nas dores agudas, neuropáticas e inflamatórias (DUTTAROY et al., 2002; ZHANG et al., 2012).

O neurotransmissor serotonina (5-HT), também denominado de 5-hidroxitriptamina, está envolvido nas funções fisiológicas básicas como secreção hormonal, ciclo sono-vigília, controle motor, funcionamento do sistema imunológico, nocicepção, ingestão de alimentos e balanço energético. Além disso, 5-HT participa das funções cerebrais superiores como cognição e estados emocionais modulando a plasticidade sináptica e a neurogênese (BRADLEY et al., 1986; DUMUIS; SEBEN; BOCKAERT, 1989; GLENNON, 2003).

Os receptores de serotonina são divididos em duas classes denominadas 5-HT<sub>1</sub> e 5-HT<sub>2</sub>. Outros tipos de receptores foram caracterizados e denominados como 5-HT<sub>3</sub> ao 5-HT<sub>7</sub>, com subtipos diferentes em cada família e encontrados em todo o SN. Os neurônios serotoninérgicos do SNC são localizados dentro dos núcleos da rafe, formação central cinzenta e reticular, e

classificados em nove grupos denominados B1-B9. As fibras decorrentes dos grupos caudais dos neurônios serotoninérgicos (B1-B4) formam o sistema descendente direcionado a medula espinhal e também projeta estruturas no cerebelo, ponte e mesencéfalo, enquanto que as fibras ascendentes são originadas do grupo rostral de neurônios serotoninérgicos (B5-B9) e inervam quase todas as áreas do cérebro (JACOBS; AZMITIA, 1992; HALLIDAY; HARDING; PAXINOS, 1995).

Outros receptores envolvidos são CB1 e CB2, ativados por canabinóide endógenos e por receptores atípicos como o receptor órfão GPR55. Nos neurônios periféricos, um agonista de CB1 reduz a mecanossensibilidade dos aferentes dos joelhos na artrite, enquanto que um agonista CB2 reduz o controle da articulação aferente (MCDOUGALL; LINTON, 2012; ZHANG; REN; DUBNER, 2013).

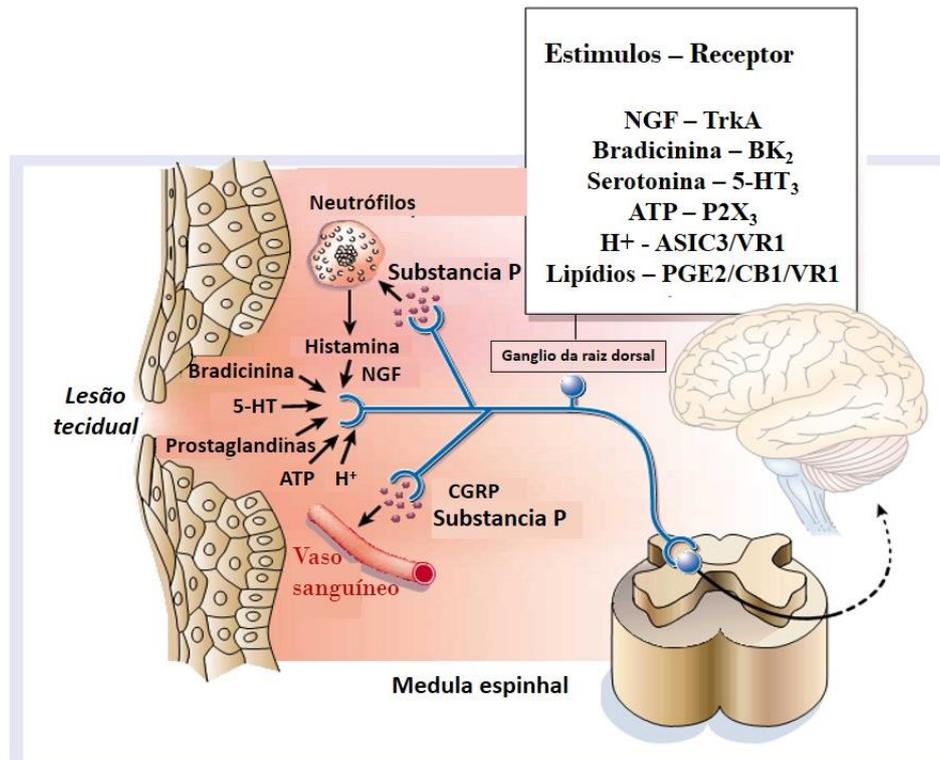
### 3.1.5 Dor aguda

A dor aguda é tipicamente associada a cirurgias, fraturas, doenças agudas ou traumatismos. É causada por um dano real aos órgãos, pele, músculos e ossos (por exemplo, tecidos do sistema não-nervoso). A dor resulta da ativação de nociceptores (Figura 1.5) que processam estímulos dolorosos e a sensibilização periférica é produzida quando os terminais do nociceptor se tornam expostos a produtos do dano e inflamações nos tecidos, referidos coletivamente como “sopa inflamatória” que promovem a transdução química da dor aguda (SAVVAS; GIBSON, 2016; HERR; BJORO; DECKER, 2006).

Os produtos da dor aguda incluem prótons extracelulares, ácido araquidônico e outros metabólitos lipídicos, serotonina, bradicinina, nucleotídeos e NGF, todos os quais interagem com receptores ou canais iônicos nas terminações nervosas sensoriais. Como os nociceptores podem liberar peptídeos e neurotransmissores (por exemplo, substância P e CGRP) a partir de seus terminais periféricos após estímulos nocivos, eles são capazes de facilitar a produção da sopa inflamatória promovendo a liberação de fatores

de células não neuronais vizinhas e tecido vascular, fenômeno conhecido como inflamação neurogênica (BASBAUM; JESSELL, 2000).

**Figura 1.5** - Transdução química da dor aguda



**Fonte:** Adaptado de Julius e Basbaum (2001)

Após uma lesão tecidual, a nocicepção é mediada por inúmeros mensageiros moleculares intracelulares e extracelulares. Os nociceptores quando são ativados, transmitem informações via glutamato, um neurotransmissor excitatório ao tecido lesionado e uma “sopa de mediadores inflamatórios” é secretada no local da lesão ativando nociceptores adicionais. Esta “sopa” é composta por produtos químicos como bradicinina, serotonina, prostaglandinas e neurotrofinas como NGF. A presença dessas moléculas ativam nociceptores ou reduzem seu limiar de ativação, resultando na transmissão de sinais aferentes para o corno dorsal da medula espinhal (APKARIAN et al., 2005).

A ativação desses nociceptores iniciam também a inflamação neurogênica, que é o processo pelo qual os nociceptores ativos liberam neurotransmissores como a substância P do terminal periférico. Isso, por sua

vez, promove a vasodilatação e extravazamento de proteínas e fluídos no espaço extracelular aumentando ainda mais os mediadores inflamatórios e estimulando a imunidade celular. Essas mudanças neuroquímicas propiciam a ativação das fibras A $\delta$  e C que respondem quando há um estímulo que cause danos nos tecidos. Algumas das substâncias envolvidas incluem a globulina e a PKC, liberadas após o dano e produzir dor (ERIC, 2012).

O ácido aracônico também é liberado durante o dano tecidual e metaboliza a produção de prostaglandinas que agem bloqueando o efluxo de potássio de nociceptores tornando-os mais sensíveis. A histamina também é lançada após o dano tecidual estimular mastócitos e neutrófilos, excitando nociceptores e posteriormente causando dor. Similarmente, NGF é desencadeado pelo dano ou pela inflamação tecidual, que então se liga aos receptores TrKa nas superfícies dos nociceptores, ativando-os. A substância P e o CGRP são liberados após a inflamação ou dano no tecido (BRYN, 2016).

Apesar do grande progresso na compreensão dos mecanismos básicos da dor aguda e crônica e da sua prevalência e impacto dessa dor, seu tratamento é extremamente difícil. Os modelos de nocicepção em animais datam do final do séc XIX e têm sido cruciais no entendimento dos processos de dor. Desde então, tem havido um grande número de modelos animais de doenças desenvolvidos para uma melhor compreensão da dor e seus estados agudos e crônicos, provando serem úteis para o avanço nas questões e processos específicos das doenças (BENNETT; XIE, 1988; BERBERICH; HOHEISEL; MENSE, 1988; HARGREAVES et al., 1988; SCHAIBLE; SCHMIDT, 1985; WOOLF, 1983; GREGORY et al., 2013).

Tornou-se cada vez mais claro que essa dor é um fenômeno heterogêneo que difere amplamente com base no tecido afetado (pele, músculo, articulações, víceras, etc.) e o mecanismo de lesão (térmica, inflamatória, neuropática, etc.) (NESS; GEBHART, 1990; SLUKA, 2002; HOEGER).

Testes baseados no uso de estímulos de longa duração para a avaliação da chamada Dor tônica, envolvem o uso de um agente químico irritante e algógeno como o estímulo nocivo. Eles diferem da grande maioria dos outros testes de abordagem de determinação do limiar nociceptivo e

envolvem uma abordagem quantitativa ao comportamento observado após a aplicação de um estímulo com uma potencia que varia com o tempo. São denominados agudos devido sua duração ser apenas na ordem de dezenas de minutos. Os principais testes comportamentais baseados em tais estímulos usam injeções intradérmicas ou intraperitoneais (GUZMAN et al., 1964; DEFFENU; PEGRASSI; LUMACHI, 1966; FOONG; SATOH; TAKAGI, 1982).

Dentre os teste utilizados para avaliação antinociceptiva está o teste de formalina, que se trata de um teste comportamental que envolve a ativação supraespinhal e é conhecido por atuar como um agonista dos receptores TRPA1. Este teste produz uma barreira inicial da atividade nervosa, seguido por um baixo nível de descarga em aferentes de fibras C. O teste de formalina resulta em um componente fásico (fase aguda, comportamento de flinching da pata) seguido de um componente tônico (fase crônica, retardada) com um curso de tempo e amplitude correspondente a atividade dos neurônios do corno dorsal da medula espinhal (DUBUISSON; DENNIS, 1977; WHEELER; PORRECA, 1990).

A dissociação da atividade da fibra C pela intensidade do comportamento indica que a segunda fase de resposta à formalina reflete a hiperalgesia. Os componentes hiperalgicos da segunda fase da formalina são mediados por receptores de substância P, receptores de NK-1 e receptores NMDA. Estes estudos em animais proporcionaram a descoberta que esses componentes no estudo da dor possuem uma farmacologia única. Agonistas opióides,  $\alpha_2$ -adrenérgico, purinérgicos e serotoninérgicos estão entre os mais poderosos na inibição dos comportamentos de fase aguda, enquanto que antagonistas dos receptores NMDA, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e inibidores da síntese de NO são mais importantes no bloqueio seletivo dos processos de hipersensibilidade (MALMBERG; YAKSH, 1992; MALMBERG; YAKSH, 1993; ROCHE et al., 1996).

### 3.1.6 Dor neuropática

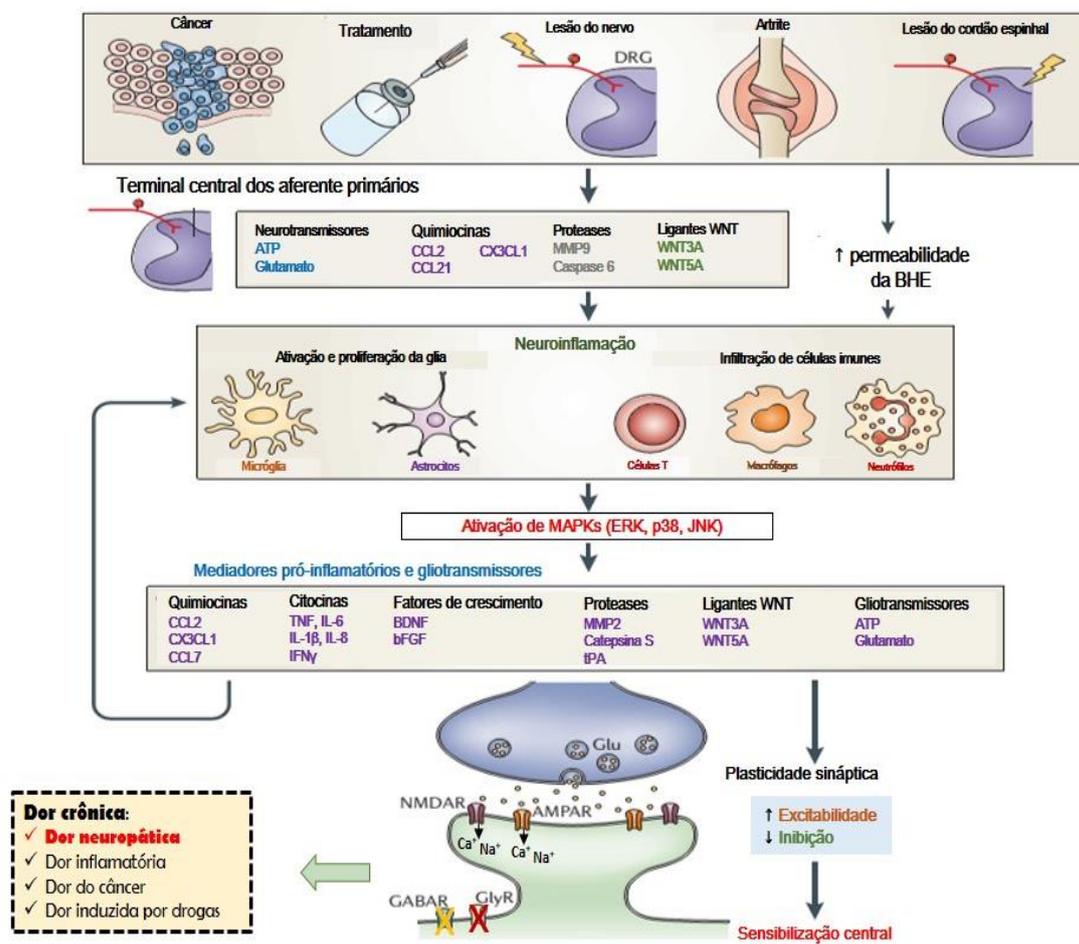
A dor neuropática, uma modalidade de dor crônica, é um problema de saúde pública que causa problemas pessoais e aflições sociais, e constitui um desafio para medicina moderna em todo o mundo. A dor neuropática geralmente é caracterizada pelas anormalidades sensoriais, como alodinia, hiperalgesia e disestesia e caracteriza-se como uma condição debilitante após uma doença ou lesão no SNC e SNP. Pessoas que sofrem dessa condição crônica podem não ser capazes de participar das atividades diárias (NGUELEFECK et al., 2010; BURAKGAZI et al., 2011).

A dor neuropática induzida por lesão no nervo e medula espinhal, dor inflamatória induzida por artrite, dor do câncer e dor induzida por drogas, resulta na neuroinflamação na medula espinhal e sensibilização central (Figura 1.6). Esta neuroinflamação é desencadeada pela liberação de ativadores glias como os neurotransmissores glutamato (ativando receptores NMDA e AMPA), ATP, quimiocinas CCL2, C3CL1 e CCL21 (Quimiocinas envolvidas nas interações de sinalização entre neurônios sensoriais primários e a micróglia na dor neuropática), proteases MMP9 (metaloproteinases intimamente envolvida com processos patológicos entre elas a inflamação e artrite), caspase 6 e ligandos WNT (moléculas reguladoras de vários processos celulares incluindo proliferação, diferenciação e migração, durante o desenvolvimento do SN) a partir dos terminais centrais dos neurônios aferentes primários e/ou por aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica BHE (HIBBS et al., 1985; AHRENS et al., 1996; TANG, 2013; OLD et al., 2014).

A neuroinflamação é caracterizada pela ativação da micróglia e astrócitos, que por sua vez ativa proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs), quinase 1 ativada por sinal extracelular (ERK), p38 MAPK, janus kinases (JNK), infiltração de células imunes no SNP (ganglios da raiz dorsal) e SNC (medula espinhal), ativação de produção de mediadores inflamatórios e glias como citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, IFN $\gamma$ ), quimiocinas, fatores de crescimento e gliotransmissores (glutamato e ATP) (ZHUANG et al., 2005; ZHUANG et al., 2006; OBATA et al., 2007).

Esses mediadores glias podem modular poderosamente a transmissão sináptica excitatória e inibitória, levando a sensibilização central e estados de dor crônica aprimorados. Os mediadores glias podem atuar ainda mais sobre as células glias e imunes para facilitar a neuroinflamação através de rotas autócrinas e paracrinias, além de atuar bloqueando receptores inibitórios da via como receptor ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) e receptor de glicina (GlyR) (Ji; XU; GAO, 2014).

**Figura 1.6 - Neuroinflamação espinal e sensibilização central**



**Fonte:** Adaptado de Ji, Xu e Gao (2014)

Por ser uma síndrome complexa, várias teorias inflamatórias e imunes estão envolvidas na etiologia da dor neuropática. Dentre elas destacam-se o estresse oxidativo e a degeneração nervosa que somados interferem na

condução normal dos impulsos dolorosos, distorcendo a resposta ao estímulo (KRAYCHETE; GOZZANI; KRAYCHETE, 2008).

O estresse ou a lesão neuronal pode desencadear um fenômeno fisiológico conhecido por degeneração axônica, documentada por Augustus Waller em seus experimentos, denominada degeneração de Waller ou Waleriana. A degeneração Waleriana é uma fragmentação rápida dos axônios distais após o dano químico, lesão do nervo ou intrínscio ao neurônio levando a uma série de processos celulares, que dentre eles, um mais comum é o influxo de cálcio extracelular e liberação de cálcio intracelular, que atuam ativando proteases axonais como as calpaínas e juntamente com outras proteínas degeneram o axônio (SCHLAEPFER; BUNGE, 1973; GEORGE; GLASS; GRIFFI, 1995; FERREIRA, 1998; ADALBERT et al., 2012; ROSENBERG et al., 2012).

Para uma melhor compreensão no estudo da dor neuropática, modelos experimentais geralmente proporcionam os eventos de alodinia e hiperalgesia a partir das lesões periféricas por processo cirúrgico, metabólicos ou tóxicos em ratos ou camundongos. Existem vários protocolos para o estudo de lesão do nervo como ligadura do nervo espinhal (SNL), onde um ou mais nervos espinhais que se direcionam para a pata são amarrados com fios de sutura e cortados; lesão constritiva crônica (CCI) que constitui em quatro ligaduras apertadas com fio cromado no nervo ciático; lesão limitada do nervo (SNI) onde são cortados os nervos fibular e tibial posterior e poupado o nervo sural provocando alterações comportamentais de longa duração e por fim a lesão parcial do nervo ciático (LPNC), em que parte do nervo é apertado por um fio de sutura (KRAYCHETE; GOZZANI; KRAYCHETE, 2008; LIM et al., 2014).

A LPNC em camundongos altera a transmissão dos impulsos dolorosos levando a uma sucessão de eventos resultantes do processo de reparo da lesão, causando modificações estruturais e funcionais, alteração na condução nervosa e sensibilização periférica e central. A importância do estudo farmacológico nesses modelos de dor é relacionada com a constrição do nervo ciático em lesões ocasionadas por traumas ou doenças crônicas que provocam algum tipo de lesão, principalmente nos nervos periféricos (SWAMYDAS; SKOFF; ADLER, 2004).

Outros métodos incluem a administração intraperitoneal de estreptozotocina para mimetizar neuropatia diabética, de paclitaxel e/ou vincristina para neuropatias induzidas por quimioterapia. Para modelos de dor central, é utilizado trauma induzido por força de impacto por desocamento tissular, lesões isquêmicas por compressão lenta através de pinçamento ou insuflação com bastonetes. Lesões específicas na substância cinzenta podem ser geradas por substâncias específicas ou métodos citotóxicos com a injeção de glutamato (CAMPBELL; MEYER, 2006; GARCIA; MAGNIN, 2008).

### 3.1.7 Radicais livres, espécies reativas de oxigênio e estresse oxidativo

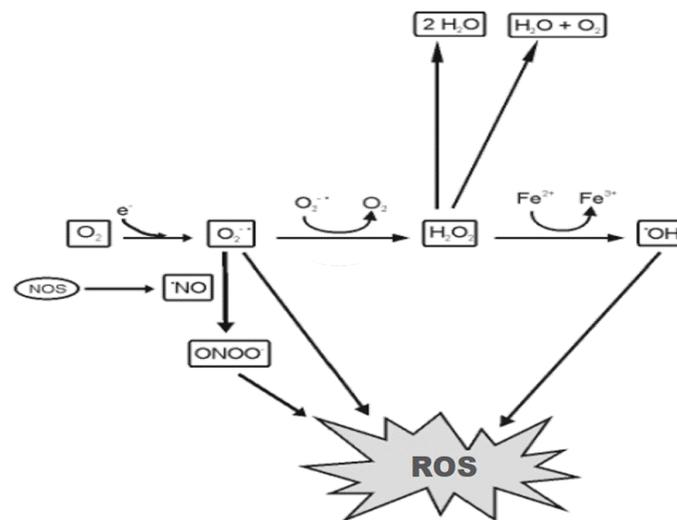
A pesquisa com radicais livres nos sistemas biológicos é um dos campos mais dinâmicos, porém está entre os mais complicados por muitas razões dentre as quais destacam-se a baixa estabilidade e alta reatividade, resultando em baixas concentrações no estado estacionário, grande diversidade de reações em que podem participar, distribuição espaço/tempo intracelular e extracelular complicada, dependência do estado fisiológico do organismo e ausência de ferramentas para avaliação de seus níveis absolutos e mesmo relativos (LUSHCHAK, 2014; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

Existem diferenças entre radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ROS). Nos organismos vivos em condições anaeróbias mais de 90% do oxigênio consumido é reduzido diretamente a água pela citocromo oxidase na cadeia de transporte de elétrons (CTE), pelo mecanismo de quatro elétrons sem liberação de ROS (OTT et al., 2007; SKULACHEV, 2012).

Em eucariotas, o sistema da CTE é localizada na membrana mitocondrial interna, acoplada com a fosforilação oxidativa para a produção de ATP. Menos de 10% do oxigênio consumido é reduzido através de vias sucessivas de um elétron (Figura 1.7), convertendo oxigênio molecular em radical ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), seguido de redução de um elétron e entrada de dois prótons para produzir peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). O  $H_2O_2$  então aceita mais um elétron e então é dividido em radical hidroxilo (HO) e ânion hidroxila ( $OH^-$ ). Em seguida o HO interage com mais um elétron e um próton resultando na molécula de água. Apenas  $O_2^{\cdot-}$  e HO são considerados radicais livres,

enquanto que o  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ , e o  $\text{HO}^\cdot$  são chamadas de ROS junto com peróxidos diversos como peróxidos lipídicos e peróxidos de proteínas. Além da sua homeostase normal, o oxigênio está intimamente relacionado a muitas outras espécies reativas como as carbonilas reativas glicoxal e metilglicoxal, mas existem também as espécies reativas de nitrogênio como óxido nítrico (NO), peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ), carbono, enxofre, halogêneos, dentre outros (HATTERSLEY, 2000; JACOB, 2006; FERRARI; SOUTO; FRANÇA, 2011; SEMCHYSHYN; LOZINSKA, 2012; BILD et al., 2013; RADY, 2013).

**Figura 1.7** - Via de formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e defesa antioxidante endógena.



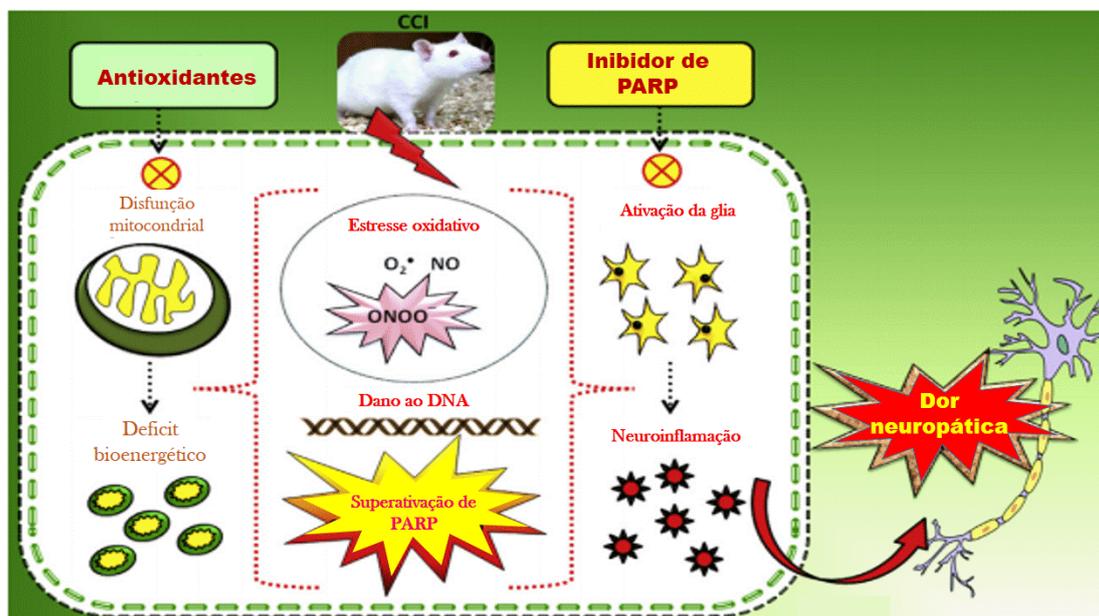
**Fonte:** Adaptado de Silva e Coutinho (2010)

O estresse oxidativo/nitroativo (Figura 1.8) esgota o componente da defesa antioxidante e amplifica os processos inflamatórios no nervo, ganglio da raiz dorsal e medula espinhal e quando em níveis mais elevados pode levar ao dano maciço do DNA. Após a detecção do dano ao DNA, ocorre uma superativação de poli-ADP-ribose polimerase (PARP, enzima de reparo do DNA) com a finalidade de reparo do DNA através de transferência de ADP-ribose para as proteínas nucleares. No entanto, a atividade dessa enzima PARP consome NAD celular e resulta em falha bioenergética através de baixa nos níveis de ATP (CHOI et al., 2012; GOECKS et al., 2012; SANDIREDDY et al., 2016).

A enzima PARP ativa NF- $\kappa$ B, um fator de transcrição responsável pela liberação de mediadores inflamatórios como a COX-2, óxido nítrico sintase induzível (iNOS), TNF- $\alpha$  e a IL-6, que por sua vez possuem um papel importante na facilitação do processamento da dor, demonstrando assim seu íntimo envolvimento na ativação de vias inflamatórias e neurodegeneração em vários tipos de dor. Perturbações nos eixos NF- $\kappa$ B e no factor nuclear ereróide 2 relacionado ao factor 2 (Nrf2), resultam no agravamento do estresse oxidativo/nitrosativo e neuroinflamação na neuropatia. O resultado de metabólitos altamente tóxicos e os radicais livres levam a ativação da detoxificação por enzimas de fase II como glutatona-S-transferase, Heme oxygenase-1 e NADPH-quinona oxireductase. Qualquer alteração nos níveis de Nrf2 altera a cascata de detoxificação (DU et al., 2003; OBROSOVA et al., 2004; SOMMER; KRESS, 2004; RYTER; ALAM; CHOI, 2006; OBROSOVA et al., 2008; NEGI, G.; KUMAR; SHARMA, 2011; YERRA et al., 2013).

Todo o processo decorrente do estresse oxidativo causa uma excessiva separação das proteínas celulares, especialmente as proteínas mitocondriais, levando a disfunção mitocondrial, e a superativação de PARP causa perda de potencial de membrana mitocondrial e queda da atividade de citocromo-c oxidase (complexo IV) e ATP-sintase promovendo perda de potencial de membrana mitocondrial (LAI et al., 2008; LIM et al., 2015).

**Figura 1.8** - Estresse oxidativo/nitrosativo após lesão do nervo



**Fonte:** Adaptado de Komirishetty et al., (2017)

Os danos oxidativos aos neurônios periféricos podem causar danos a bainha de mielina, proteínas mitocondriais e outras enzimas antioxidantes. Dessa forma, a identificação de níveis de malondialdeído (TBARS), glutatona reduzida (GSH), superóxido dismutase (SOD) e atividades de enzimas mitocondriais tais como citrato sintase e ATP sintase podem ser úteis no monitoramento do curso da neuropatia periférica e respostas no tratamento dessa neuropatia (ARETI et al., 2014).

### 3.1.8 Tratamento farmacológico da dor

A dor é a principal razão pela qual as pessoas procuram cuidados médicos caracterizando-se um valioso sintoma na investigação e definição do diagnóstico do paciente. É uma das principais causas de incapacidades, repercutindo psicossocial e economicamente na qualidade de vida o que o torna um problema de saúde pública.

Atualmente, AINEs e opióides constituem as duas classes principais de medicamento utilizados no tratamento da dor aguda. Os AINEs constituem medicações de primeira linha no controle da dor aguda, reduzindo a

biossíntese de prostaglandinas tanto na periferia como no SNC. Apesar de seu efeito anti-inflamatório ocorrer periféricamente, a analgesia se verifica no compartimento central pois agem proporcionando um efeito poupador de opióides, diminuindo seu consumo e, conseqüentemente seus efeitos adversos (MARRET et al., 2005).

Os AINES são mais eficazes do que os opióides no controle da dor somática e dinâmica, e apresentam propriedades anti-hiperalgésicas. No entanto exibem fenômeno de efeito-teto para a analgesia, onde doses acima das estabelecidas não estão relacionadas com maior grau de analgesia e sim acarretam no aumento da incidência de efeitos adversos como gastrotoxicidade e nefrotoxicidade (HYLLESTED et al., 2002; ONG et al., 2007).

Os opióides são analgésicos potentes indicados em caso de dor moderada a intensa principalmente em casos de difícil controle com outros métodos, porém possuem efeitos adversos que incluem náuseas, vômitos, sedação, distúrbios cognitivos, retenção urinária, constipação e, raramente, depressão respiratória de acordo com a dose, idade, condições clínicas do paciente e tempo de exposição. Seu uso crônico pode promover tolerância (necessidades de doses crescentes para a manutenção da analgesia). Nenhum opióide específico é superior aos demais quanto à eficácia terapêutica ou incidência de efeitos adversos, porém alguns pacientes se adaptam melhor a um tipo ou outro opióide (AL-HASHIMI et al., 2013).

O tratamento da dor neuropática, geralmente se concentra no tratamento dos sintomas porque raramente a causa da dor pode ser tratada. Além disso, o manejo de condições etiológicas, como diabetes mellitus, é tipicamente insuficiente para aliviar a dor neuropática. Pacientes com dor neuropática geralmente não respondem a analgésicos como o acetaminofeno, AINEs ou opióides fracos como a codeína (COLLOCA et al., 2017).

Numerosas recomendações terapêuticas, com diferentes classes de drogas para a dor neuropática são propostos. A pregabalina (análogo do GABA), duloxetina (inibidos da receptação de serotonina-noradrenalina) e vários antidepressivos tricíclicos são recomendados para o tratamento de primeira linha para dor neuropática e central. Alta concentração de capsaicina (princípio ativo de pimentas do gênero *Capsicum ssp*), emplastro de lidocaína e

tramadol (opióides com efeitos de inibição da receptação de serotonina e noradrenalina) apresentam fracas evidências em seu uso sendo recomendadas apenas como tratamento de segunda linha na neuropatia periférica. Uma terceira linha de tratamentos, porém com fracas recomendações, é o uso de opióides fortes e toxina botulínica A (administrados por especialistas) (ATTAL et al., 2006; ATTAL et al., 2010; TAN et al., 2010; MOULIN et al., 2014; FINNERUP et al., 2015).

Os tratamentos com monoterapias também tem suas aplicações no tratamento da dor neuropática. Entre os antiepiléticos, a eficácia da pregabalina e da gabapentina, incluindo formulações de liberação estendida, foi bem estabelecida para o tratamento da dor neuropática periférica e, em menor grau, dor por lesão medular devido a essa associação resultar numa diminuição da sensibilização central. Porém, existem recomendações fracas, negativas ou inconclusivas para outros tratamentos medicamentosos na dor neuropática em geral. Estudos mostraram que os resultados para inibidores seletivos de receptação de serotonina, antagonistas NMDA, mexiletina (um bloqueador não-seletivo de canais de sódio voltagem-dependente) e clonidina foram inconsistentes ou negativos em certos sub-grupos de tratamento (LUO, et al., 2001; COLLOCA et al., 2017).

Diante das desvantagens expostas em todas as classes de fármacos supracitados, existe a necessidade de estudos com substâncias com potencial de ação analgésico, antiinflamatórios, antioxidantes e com baixo risco de toxicidade, geralmente vantagens essas encontradas nos produtos naturais.

### **3.2 Produtos naturais no tratamento da dor**

De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde - OMS, pelo menos 80% das pessoas em países emergentes utilizam plantas medicinais para os cuidados básicos de saúde. Hoje em dia, o uso de produtos naturais no Brasil cresceu, bem como o uso de ervas medicinais e terapias relacionadas. A alta prevalência de estudos no Brasil, comparado aos estudos na Índia e China, demonstram que isso ocorreu devido a vasta biodiversidade encontrada nesses países e o já existente uso cultural de plantas medicinais ou produtos naturais

relacionados no tratamento de vários tipos de doença (BOUKHATEM et al., 2013; NGO; OKOGUN; FOLK, 2013).

Dentre os produtos oriundos de espécies vegetais com atividade farmacológica, merecem destaque os óleos essenciais (OE) e seus constituintes. Além da sua utilização na aromaterapia e em várias áreas de produção industrial, também são descritos como produtos com grande potencial terapêutico e farmacológico (EDRIS, 2007).

Os OE são substâncias líquidas aromáticas, com compostos voláteis extraídos de flores, folhas, talos, frutas e raízes e também destiladas a partir de resinas. Ganham importância como produtos terapêuticos, cosméticos, aromáticos e perfumes. Em sua constituição complexa, inclui a presença de compostos como terpenos (predominantemente), e outros constituintes químicos de diferentes classes como álcoois e aldeídos terpênicos, cetonas, fenilpropanóides, alcanos e álcoois alifáticos entre outros (SVOBODA; DEANS, 1995; EVANS, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2002; BURT, 2004; EDRIS, 2007; DUNNING, 2013).

Vários processos são utilizados para a extração dos óleos essenciais como a destilação a vapor e, por serem constituídos de substâncias complexas de baixo peso molecular, possuem várias atividades farmacológicas como antifúngica, anticancerígena, antibacteriana, antimutagênica, antinociceptiva e anti-inflamatória. Existe uma grande diversidade química de álcoois primários e secundários originados de OE, dos quais são produzidos vários compostos usados na indústria alimentícia (SCOTT, 2000; RAUT; KARUPPAYIL, 2014; MARTINO et al., 2015).

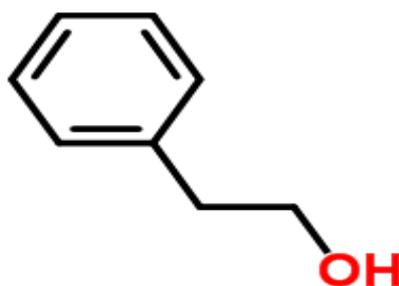
Os alcoóis superiores são compostos por alcoóis alifáticos e aromáticos, encontrados naturalmente em plantas aromáticas ou produzidos pelas leveduras durante o metabolismo fermentativo, constituídos por alcoóis de cadeia simples ou ramificadas, com número de carbono maior que dois e peso molecular e ponto de ebulição superior ao do etanol. Podem ser formados a partir do metabolismo de carboidratos como o piruvato ou através do catabolismo de aminoácidos aromáticos de cadeia ramificada pela via de Ehrlich. Os alcoóis alifáticos incluem propanol, isobutanol, álcool amílico ativo,

álcool isoamílico e o 2-feniletanol (BIDAN, 1975; NYKANEN; NYKANEN, 1977; LAMBRECHTS; PRETORIUS, 2000; HAZELWOOD et al., 2008).

### 3.3 2-Feniletanol

O 2-feniletanol (2-FE) é um álcool aromático caracterizado por uma delicada fragrância de pétalas de rosas e muito utilizado como aromatizante nas indústrias de alimentos, cosméticos e perfumes. Possui fórmula molecular  $C_8H_{10}O$  e sua fórmula estrutural está representada na Figura 1.9 (HAZELWOOD et al., 2008; HUANG; LEE; CHOU, 2001).

**Figura 1.9** - Fórmula estrutural do 2-Feniletanol



O 2-FE é um líquido incolor encontrado em óleos essenciais de uma variedade de espécies vegetais como *Rosa damascena* Mill. *Rosa galica* L., *Hyacinthus orientalis* L., *Pinus halepensis* Mill., *Dianthus caryophyllus* L., *Citrus aurantium* var. *sinensis* dentre outras. Possui grande interesse biológico devido à sua propriedade antimicrobiana, na qual exerce efeito inibidor sobre o crescimento de micro-organismos e bactérias gram-negativas e gram-positivas (LILLY; BREWER, 1953).

Foram identificados vários compostos extraídos de *Rosa damascena* e dentre eles o constituinte majoritário com 78,38% foi o 2-FE. O extrato etanólico das partes aéreas de *R. damascena* apresentou atividade depressora no SNC em camundongos, efeitos hipnóticos, anticonvulsivantes, antidepressivos e analgésicos. O extrato hidroalcolico de *R. damascena* não

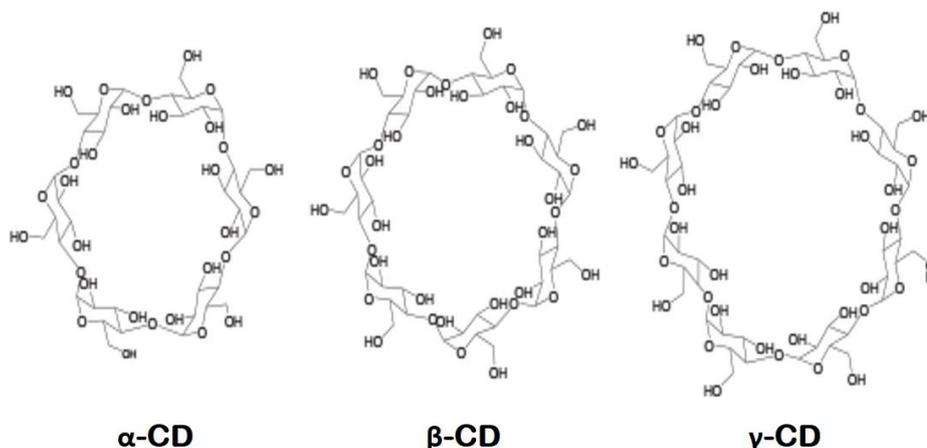
mostrou atividade mecânica, porém o extrato etanólico apresentou efeito antinociceptivo (HEIM; TAGLIAFERRO; BIBILYA, 2002; SCHIBER et al., 2005; NYEEM et al., 2006; LOGHMANI-KHOUZANI; SABZI-FINI; SAFARI, 2007).

Compostos derivados de óleos essenciais como o 2-FE possuem desvantagens de instabilidade no processo de preparação e armazenamento, e devido à sua baixa solubilidade em água têm limitado suas aplicações. Os óleos essenciais podem ainda se oxidar, decompor - se ou evaporar quando expostos ao ar, luz ou calor. Uma forma de estabilização e uso desses óleos ou substâncias derivadas deles é pela sua inclusão em moléculas hospedeiras adequadas. Tem sido demonstrado que além de melhorar a solubilidade, a inclusão com ciclodextrinas (CDs) também reduz a volatilidade, oxidação e decomposição térmica, de modo que os seus campos de aplicação podem ser ampliados consideravelmente (AMANN; DRESSNANDT, 1993; WU; HUANG; QI, 2006).

### **3.4 Ciclodextrinas**

As ciclodextrinas (CDs) nativas (Figura 1.10), são oligossacarídeos cíclicos não tóxicos derivados da degradação enzimática do amido e constituídas por seis, sete ou oito unidades de glicoses unidas por ligações  $\alpha$ 1,4 e chamadas de  $\alpha$ -ciclodextrinas ( $\alpha$ -CD),  $\beta$ -ciclodextrinas ( $\beta$ -CD) e  $\gamma$ -ciclodextrina ( $\gamma$ -CD), respectivamente. O encapsulamento em CDs é uma das tecnologias mais aplicadas nos sistemas de proteção e liberação controlada de substâncias e uma das principais estratégias para manter a integridade estrutural e atividades biológicas de moléculas ativas (CIOBANU; LANDY; FOURMENTIN, 2013; KURKOV, S. V.; LOFTSSON, 2013; HĂDĂRUGĂ et al., 2014; REINECCIUS; YAN, 2016).

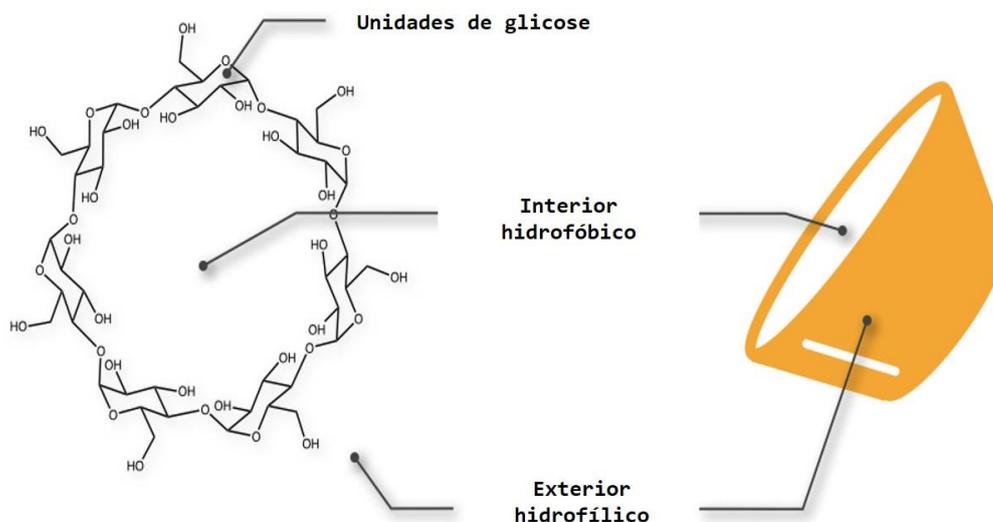
**Figura 1.10** - Representação das estruturas químicas das  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -ciclodextrinas



**Fonte:** Andreus, et al., (2010)

Forma estrutural das CDs é de um cone truncado com uma superfície externa hidrofílica e uma cavidade interior hidrofóbica, permitindo que eles encapsulem substâncias e formem complexos de inclusão em solução e estado sólidos (Figura 1.11). A liberação desses componentes complexados podem ser influenciadas por fatores ambientais específicos, como temperatura e umidade relativa (REINECCIUS; YAMAMOTO et al., 2012; YANG; XIAO; JI, 2015).

Devido as CDs apresentarem um papel importante no desenvolvimento de fármacos pouco solúveis em água, as mesmas proporcionam ao fármaco aumento de solubilidade, devido a propriedade de formação de complexos de inclusão, atuando como carreador hidrofílico desses fármacos. A aplicação farmacêutica mais importante inerente as ciclodextrinas são o aumento da solubilidade, estabilidade, segurança e biodisponibilidade de fármacos (BREWSTER; LOFTSSON, 2007).

**Figura 1.11** - Representação da forma estrutural de ciclodextrinas

Vários estudos de caracterização de complexos de inclusão tem sido realizados entre fármacos e CDs. Estas moléculas hospedeiras ocupam um espaço importante devido à produção econômica em larga escala, que permite sua utilização em nível industrial. Como características inerentes a estas moléculas destacam-se a baixa toxicidade e a possibilidade de serem empregadas para consumo humano como auxiliares na formulação de drogas, alimentos e de cosméticos. A  $\beta$ -CD é a mais utilizada devido ao seu baixo custo e tamanho da cavidade ser apropriada para acomodar uma grande variedade de fármacos (SZEJTLI, 1998; GRILLO et al., 2007).

A  $\beta$ -CD podem ser encontrada em numerosas formas de dosagem orais comercializadas, bem como em formulações tópicas, medicamentos bucais e retais. As  $\beta$ -CD não podem ser administradas por vias parenterais, devido sua baixa solubilidade aquosa e efeitos adversos (por exemplo, nefrotoxicidade) porém é essencialmente não tóxico quando administrado por via oral (BELLRINGER et al., 1995).

## REFERÊNCIAS

---

- ACHER, F.; GOUDET, C. Therapeutic potential of group III metabotropic glutamate receptor ligands in pain. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 20, p. 64-72, 2015.
- ADALBERT, R.; MORREALE, G.; PAIZS, M.; CONFORTI, L.; WALKER S. A.; RODERICK H. L.; BOOTMAN, M. D.; SIKLOS, L.; COLEMAN, M. P. Intra-axonal calcium changes after axotomy in wild-type and slow Wallerian degeneration axons. **Neuroscience**, v. 225, p. 44-54, 2012.
- AHRENS, D.; KOCH, A. E.; POPE, R. M.; STEIN, M. P.; NIEDBALA, M. J. **Arthritis Rheum**, v. 39, p. 1576–1587, 1996.
- ALEY, K. O.; LEVINE, J. D. Role of protein kinase A in the maintenance of inflammatory pain. **Journal of Neuroscience**, v. 19, p. 2181–2186, 1999.
- AL-HASHIMI, M.; SCOTT, S.W. M.; THOMPSON, J. P.; LAMBERT, D. G. Opioids and immune modulation: more questions than answers. **Br J Anaesth**, v. 111, p. 80-88, 2013.
- AMANN, M.; DRESSNANDT, G. Solving problems with cyclodextrins in cosmetics. **Cosmet Toilet**, v. 108, p.90-95, 1993.
- ANGGONO, V.; HUGANIR, R. L.; Regulation of AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. **Current Opinion in Neurobiology**. v. 22, p. 461-469, 2012.
- APKARIAN, A. V.; BUSHNELL, M. C.; TREEDE, R. D.; ZUBIETA, J. K. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. **European Journal of Pain**, v. 9, p. 463-484, 2005.
- ARETI, A.; YERRA, V. G.; NAIDU, V. G. M.; KUMAR, A. Oxidative stress and nerve damage: Role in chemotherapy induced peripheral neuropathy. **Redox Biology**, v. 2, p. 289–295, 2014.
- ASHMAWI, H. A.; FREIRE, G. M. G. Sensibilização periférica e central. **Revista dor**, v. 17 (1), p. S31-S34, 2016.
- ATTAL, N.; CRUCCU, G.; BARON, R.; HAANPÄÄ, M.; HANSSON, P.; JENSEN T. S.; NURMIKKO, T. EFNS guidelines on pharmacological treatment of neuropathic pain. **Eur. J. Neurol**, v. 13, p. 1153–1169, 2006.
- ATTAL, N.; CRUCCU, G.; BARON, R.; HAANPÄÄ, M.; HANSSON, P.; JENSEN, T. S.; NURMIKKO, T. EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision. **Eur. J. Neurol**, v. 17, p.1113–1188, 2010.
- BASBAUM, A. I.; BAUTISTA, D. M.; SCHERRER G.; JULIUS, D. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. **Cell**, v. 139, p. 267-284, 2009.

BASBAUM, A. I.; JESSELL, T. The perception of pain. In *Principles of Neuroscience*, E.R. Kandel, J. Schwartz, and T. Jessell, eds. (New York:Appleton and Lange), p. 472–491, 2000.

BEKERS, O.; UIJTENDAAL, E. V.; BEIJNEN, J. H.; BULT, A.; UNDERBERG, W. J. M. Cyclodextrins in the pharmaceutical field. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, vol.17, p. 1503-1549, 1991.

BELLRINGER, M. E.; SMITH, T.G.; READ, R.; GOPINATH, C.; OLIVER, P.  $\beta$ -Cyclodextrin: 52-week toxicity studies in the rat and dog. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33(5), p. 367–376, 1995.

BENNETT, G. J.; XIE, Y. K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. **Pain**, v. 33, p. 87–107, 1988.

BERBERICH, P.; HOHEISEL, U.; MENSE, S. Effects of a carrageenan induced myositis on the discharge properties of group III and IV muscle receptors in the cat. **J Neurophysiol**, v. 59, p. 1395–1409, 1988.

BIDAN, P. Relation entre la teneur des vins en alcools superieurs et la teneur des mouts em substances azotees en particulier en acides amines. **Bulletin de l'OIV**, v. 48, 1975.

BILD, W.; CIOBICA, A.; PADURARIU, M.; BILD V. The interdependence of the reactive species of oxygen, nitrogen, and carbon. **J. Physiol. Biochem**, v. 69, p. 147–154, 2013.

BOSKABADY, M. H.; VATANPRAST, A.; PARSEE, H.; GHASEMZADEH, M. Effect of aqueous-ethanolic extract from *Rosa damascena* on guinea pig isolated heart. **Iran J Basic Med Sci**, v. 14, p. 116-121, 2011.

BOUKHATEM, M. N.; KAMELI, A.; FERHAT, M. A.; SAIDI, F.; MEKARNIA, M. Rose geranium essential oil as a source of new and safe anti-inflammatory drugs. **The Libyan journal of medicine**, v. 8, p. 22520, 2013.

BRADLEY, P. B.; ENGEL, G.; FENIUK, W.; FOZARD, J. R.; HUMPHREY, P. P.; MIDDLEMISS, D. N.; MYLECHARANE, E. J.; RICHARDSON, B. P.; SAXENA, P. R. Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. **Neuropharmacology**, v. 25(6), p. 563-576, 1986.

BRAZ, J. M.; NASSAR, M. A.; WOOD, J. N.; BASBAUM, A. I. Parallel “pain” pathways arise from subpopulations of primary afferent nociceptor. **Neuron**, v. 47, p. 787–793, 2005.

BRAZ, J.; SOLORZANO, C.; WANG, X.; BASBAUM, A. I. Transmitting Pain and Itch Messages: A Contemporary View of the Spinal Cord Circuits that Generate Gate Control. **Neuron**, v. 82, p. 522-536, 2014.

BREDDT, D. S.; GLATT, C. E.; HWANG, P. M.; FOTUHI, M.; DAWSON, T. M.; SNYDER, S. H. Nitric oxide synthase protein and mRNA are discretely localized in neuronal populations of the mammalian CNS together with NADPH diaphorase. **Neuron**, v. 7, n 4, p. 615–624, 1991.

BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 645–666, 2007.

BROOKS, J.; TRACEY, I. From nociception to pain perception: imaging the spinal and supraspinal pathways. **Journal of Anatomy**, v. 207, n.1, p. 19–33, 2005.

BRYN, J. Department of Neurobiology and Anatomy at The University of Texas Medical School at Houston, September 21, 2016.

BURAKGAZI, A. Z.; MESSERSMITH, W.; VAIDYA, D.; HAUER, P.; HOKE, A.; POLYDEFKIS, M. Longitudinal assessment of oxaliplatin-induced neuropathy, **Neurology**, v. 77, p. 980–986, 2011.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. **International journal of food microbiology**, v. 94(3), p. 223-253, 2004.

CAMPBELL, J. N.; MEYER, R. A. Mechanisms of neuropathic pain. **Neuron**, v. 52, p. 77–92, 2006.

CHAPMAN, C. R.; TUCKETT, R. P.; SONG, C. W. Pain and stress in a systems perspective: Reciprocal neural, endocrine, and immune interactions. **J Pain**, v. 9, p.122-145, 2008.

CHOI, D. C.; LEE, J. Y.; LIM, E. J.; BAIK, H. H.; OH, T. H.; YUNE, T. Y. Inhibition of ROS-induced p38MAPK and ERK activation in microglia by acupuncture relieves neuropathic pain after spinal cord injury in rats. **Exp Neurol**, v. 236, p. 268–282, 2012.

CIOBANU, A.; LANDY, D.; FOURMENTIN, S. Complexation efficiency of cyclodextrins for volatile flavor compounds. **Food Research International**, v. 53(1), p. 110–114, 2013.

CITADINI-ZANETTE, V.; DELLA COLLE, M. P.; PEREIRA, R. C.; ROSSATO, A. E.; FERREIRA, M. E. A.; SANTOS, R. Fitoterapia Racional: aspectos taxonômicos, agroecológicos, etnobotânicos e terapêuticos. Redes de Herbários e Herbários Virtuais do Brasil – 68º Congresso Nacional de Botânica UNISANTA Bioscience, v. 6, nº 5 – Edição Especial 2017.

COLLINGRIDGE, G. L.; BLISS, T. V. Memories of NMDA receptors and LTP. **Trends Neurosci**, v. 18, p. 54-56, 1995.

COLLOCA, L.; LUDMAN, T.; BOUHASSIRA, D.; BARON, R.; DICKENSON, A. H.; YARNITSKY, D.; FREEMAN, R.; TRUINI, A.; ATTAL, N.; FINNERUP, N.; ECCLESTON, C.; KALSO, E.; BENNETT, D. L.; DWORKIN, R. H.; RAJA, S. N. Neuropathic pain. **Nature**, v. 3, p.1-19, 2017.

DAWES, J. M.; KIESEWETTER, H.; PERKINS, J. R.; BENNETT, D. L. H.; MCMAHON, S. B. Chemokine expression in peripheral tissues from the Monosodium Iodoacetate model of chronic joint pain. **Mol Pain**, v. 9, p. 57-69, 2013.

DEFFENU, G.; PEGRASSI, L.; LUMACHI, B. The use of bradykinin-induced effects in rats as an assay for analgesic drugs. **J Pharm Pharmacol**, v. 18, p. 135, 1966.

DENK, F.; MCMAHON, S. B.; TRACEY, I. Pain vulnerability: a neurobiological perspective. **Nat Neurosci**, v.17, p. 192–200, 2014.

DJOUHRI, L. A-fiber low threshold mechanoreceptors innervating mammalian hairy skin: A review of their receptive, electrophysiological and cytochemical properties in relation to A-fiber high threshold mechanoreceptors. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 61, p. 225–238, 2016.

DRUMMOND, J.P.F. Neurofisiologia. In: Drummond, J.P.F. Dor Aguda – Fisiopatologia, clínica e terapêutica. Curitiba: Editora Atheneu, p. 25, 2000.

DU, L.; ZHANG, X.; HAN, Y. Y.; BURKE, N. A.; KOCHANNEK, P. M.; WATKINS, S. C.; GRAHAM, S. H.; CARCILLO, J. A.; SZABA, C.; CLARK, R. S. B. Intra-mitochondrial poly (ADP-ribosylation) contributes to NAD<sup>+</sup> depletion and cell death induced by oxidative stress. **J Biol Chem**, v. 278, p. 18426–18433, 2003.

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

DUMUIS, A.; SEBBEN, M.; BOCKAERT, J. BRL 24924: a potente agonist at a non-classical 5-HT receptor positively coupled with adenylate cyclase in colliculi neurons. **Eur. J. Pharmacol**, v. 162(2), p. 381-384, 1989.

DUNNING, T. Aromatherapy: overview, safety and quality issues. **OA Altern Med**, v. 1, p. 1-6, 2013.

DUTTARROY, A.; GOMEZA, J.; GAN, J. W.; SIDDIQUI, N.; BASILE, A. S.; HARMAN, W. D.; SMITH, P. L.; FELDER, C. C.; LEVEY, A. I.; WESS, J. Evaluation of Muscarinic Agonist-Induced Analgesia in Muscarinic Acetylcholine Receptor Knockout Mice. **Molecular pharmacology**, v. 62, n. 5, p. 1084–1093, 2002.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, v. 21(4), p. 308–323, 2007.

ERIC, G. Pain processing in the human nervous system: A selective review of nociceptive and biobehavioral pathways. **Primary Care**, v. 39, p. 561-571, 2012.

EVANS W. C. Trease and Evans pharmacognosy. 4th ed. London: WB Saunders Co, 2000.

FEBRE, C. E.; CONDORET, J. S.; MARTY, A. extractive fermentation of aroma with supercritical CO<sub>2</sub>. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 70, p. 392-400, 1999.

FERRARI, P. C.; SOUTO, E. L.; FRANÇA, A. C. Honorio-França, Oxidative and nitrosative stress on phagocytes' function: from effective defense to immunity evasion mechanisms, Arch. Immunol. **Ther. Exp. (Warsz)**, v. 59, p. 441–448, 2011.

FERREIRA, A. S. Lesões nervosa periféricas: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Santos, 1998.

FINNERUP, N. B.; ATTAL, N.; HAROUTOUNIAN, S.; MCNICOL, S.; BARON, R.; et al. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Neurology**, v. 14, (2), p. 129-130, 2015.

FOONG, F. W.; SATOH, M.; TAKAGI, H. A newly devised reliable method for evaluating analgesic potencies of drugs on trigeminal pain. **J Pharmacol Methods**, v. 7, p. 271–278, 1982.

FRIAS, B.; MERIGHI, A. Capsaicin, Nociception and Pain. **Molecules**, v. 21, p. 797-830, 2016.

GARCIA, L. L.; MAGNIN, M. Physiopathologie de la douleur neuropathique: revue des modèles expérimentaux et des mécanismes proposés. **Presse Med**, v. 37, p. 315–340, 2008.

GARTHWAITE, J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. **Trends in Neurosciences**, v. 14, n. 2, p. 60–67, 1991.

GARTHWAITE, J.; CHARLES, S.; CHESS, L. W. R. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. **Nature**, v. 336, n. 6197, p. 385–388, 1988.

GEERTZEN, J. H. B.; VAN, W. C.P.; SCHRIER, E.; DIJKSTRA, P. U. Chronic pain in rehabilitation medicine. **Disability and rehabilitation**, v. 28, p. 363-367, 2006.

GEORGE, E.B.; GLASS, J.D.; GRIFFI, J. W. Axotomy-induced axonal degeneration is mediated by calcium influx through ion-specific channels. **Journal of Neuroscience**, v. 1, p. 6445–6452, 1995.

GHOLAMHOSEINIAN, A.; FALLAH, H.; SHARIFI-FAR, F.; MIRTAJADDINI, M. The inhibitory effect of some Iranian plant extracts on the alpha glucosidase. **Iran J Basic Med Sci**, v. 11, p. 1–9, 2008.

GLENNON, R. A. Higher-end serotonin receptors: 5-HT(5), 5-HT(6), and 5-HT(7). **J. Med. Chem**, v. 46(14), p. 2795-812, 2003.

GOECKS, C. S. B.; HORST, A.; MORAES, M. S.; SCHEID, T.; KOLBERG, C.; BELLKLEIN, A.; PARTATA, W. A. Assessment of oxidative parameters in rat spinal cord after chronic constriction of the sciatic nerve. **Neurochem Res**, v. 37, p. 1952–1958, 2012.

GOLD, M. S.; LEVINE, J. D.; CORREA, A. M. Modulation of TTX-R INa by PKC and PKA and their role in PGE 2-induced sensitization of rat sensory neurons in vitro. **Journal of Neuroscience**, v. 18, p. 10345–10355, 1998.

GREGORY, N.; HARRIS, A. L.; ROBINSON, C. R.; DOUGHERTY, P. M.; FUCHS, P. N.; SLUKA, K. A. An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. **J Pain**, v. 14(11), p.1-26, 2013.

GRILLO, R.; MELO, N. F. S.; MORAES, C. M.; ROSA, A. H.; ROVEDA, J. A. F.; MENEZES, C. M. S.; FERREIRA, E. I.; FRACETO, L. F. Hydroxymethylnitrofurazone: dimethyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex: a physical chemistry characterization. **Journal of Biological physics**, v. 33, p. 445-453, 2007.

GUEDES, V.; SANTOS, M.G.; MARTINS, D.; CRUZ, F. G. Metabólitos secundários produzidos pela espécie *Xylaria* sp. (Xylariaceae) – 31<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ) <<http://sec.sbq.org.br/cdrom/31ra/resumos/T0601-1.pdf>>, 2008.

GUZMAN, F.; BRAUN, C.; LIM, R. K. S.; POTTER, G. D.; RODGERS, D. W. Narcotic and non-narcotic analgesics which block visceral pain evoked by intra-arterial injection of bradykinin and other algescic agents. **Arch Int Pharmacodyn**, v.149, p. 571–588, 1964.

HĂDĂRUGĂ, D. I.; HĂDĂRUGĂ, N. G.; COSTESCU, C. I.; DAVID, I.; GRUIA, A.T. Thermal and oxidative stability of the *Ocimum basilicum* L. Essential oil/ $\beta$ -cyclodextrin supramolecular system. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 10(1), p. 2809–2820, 2014.

HALLIDAY, G.; HARDING, A.; PAXINOS, G. Serotonin and Tachykinin Systems, in *The Rat Nervous System*, G. Paxinos, Editor. Academic Press. p. 929-974, 1995.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine, Clarendon Press, Oxford, 1989.

HAMILTON-KEMPFER, T. R.; ARCHOBOLD, D. D; LOUGHRIN, J. H; COLLINS, R. W.; BYERS, M. E. Metabolism of natural volatile compounds by strawberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 9, p. 2802-2805, 1996.

HARDINGHAM, N.; DACHTLER, J.; FOX, K. Th role of nitric oxide in pre-synaptic plasticity and homeostasis. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 7, article 190, 2013.

HARGREAVES, K.; DUBNER, R.; BROWN, F.; FLORES, C.; JORIS, J. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. **Pain**, v. 32, p. 77–88, 1988.

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R.J. The re-emergence of natural products for drug Discovery in the genomics era. **Natural Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 2, p. 111-129, 2015.

HATTERSLEY, J. G. The negative health effects of chlorine. **J. Orthomolecular Med**, v. 15, p. 89–95, 2000.

HAZELWOOD, L. A. DARAN, J. M.; VAN, A. J. M.; PRONK, J. T.; DICKINSON, J. R. The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 8, p. 2259, 2008.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BIBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure–activity relationships. **J Nutr Biochem**, v.13, p. 572-84, 2002.

HEINRICHER, M. M.; TAVARES, I.; LEITH, J. L. Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity. **Brain Res Rev**, v. 60, p. 214–225, 2009.

HERR, K.; BJORO, K.; DECKER, S. Tools for assessment of pain in nonverbal older adults with dementia: a state-of-the-science review. **J pain symptom Manag**, v. 31(2), p. 170–192, 2006.

HIBBS, M. S.; HASTY, K. A.; SEYER, J. M.; KANG, A. H.; MAINARDI, C. **J. Biol. Chem**, v. 260, p. 2493–2500, 1985.

HONORE, P.; ROGERS, S. D.; SCHWEI, M. J.; JOHNSON\*, J. L. S.; LUGER, M. N.; SABINO, M. C.; CLOHISY, D. R.; MANTYH, P. W. Murine models of inflammatory, neuropathic and cancer pain each generates a unique set of neurochemical changes in the spinal cord and sensory neurons. **Neuroscience**, v. 98, p. 585–598, 2000.

- HUANG, C.; LEE, S. L.; CHOU, C. C. Production of 2-phenylethanol, a flavor ingredient, by *Pichia fermentans* L-5 under various culture conditions. **Food Research International**, v. 34, p. 277-282, 2001.
- HUBERT, G. W.; PAQUET, M.; SMITH, Y. Differential subcellular localization of mGluR1a and mGluR5 in the rat and monkey Substantia nigra. **J Neurosci**, v. 21, p. 1838–47, 2001.
- HYLLESTED, M.; JONES, S.; PEDERSEN, J. L.; KEHLET, H. Comparative effect of paracetamol, NSAIDs or their combination in postoperative pain management: a qualitative review. **Br J Anaesth**, v. 88, p. 199-214, 2002.
- JACOB, C. A scent of therapy: pharmacological implications of natural products containing redox-active sulfur atoms. **Nat. Prod. Rep.**, v. 23, p. 851–863, 2006.
- JACOBS, B. L.; AZMITIA, E. C. Structure and function of the brain serotonin system. **Physiol. Rev**, v. 72(1), p. 165-229, 1992.
- JI, R. R.; XU, Z. Z.; GAO, Y. J. Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain. **Nature reviews**, v. 13, p. 533-548, 2014.
- JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v.413, p. 203-210, 2001.
- KAPUR, B. M.; LALA, P. K.; SHAW, J. L.V. Pharmacogenetics of chronic pain management. **Clinical Biochemistry**, v. 47, p. 1169–1187, 2014.
- KIM, K. S.; LEE, K. W.; IM, J. Y.; YOO, J. Y.; KIM, S. W.; LEE, J. K.; NESTLER, E. J.; HAN, P. L. Adenylyl cyclase type 5 (AC5) is an essential mediator of morphine action. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 103, p. 3908-3913, 2006.
- KIM, S. H.; CHUNG, J. M. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. **Pain**, v. 50, p. 355–363, 1992.
- KOGA, K.; DESCALZI, G.; CHEN, T.; KO, H. G.; LU, J.; LI, S.; SON, J.; KIM, T.; KWAK, C.; HUGANIR, R. L.; ZHAO, M. G.; KAANG, B. K.; COLLINGRIDGE, G. L.; ZHUO, M. Coexistence of two forms of LTP in ACC provides a synaptic mechanism for the interactions between anxiety and chronic pain. **Neuron**, v. 85, p. 377-389, 2015.
- KOGA, K.; LI, S.; ZHUO, M. Metabotropic glutamate receptor dependent cortical plasticity in chronic pain. **Curr. Neuropharmacol**, v. 14, p. 427-434, 2016.
- KRAYCHETE, D. C.; GOZZANI, J. L.; KRAYCHETE, A. C. Dor Neuropática – Aspectos Neuroquímicos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 58, n. 5, p. 492-505, 2008.

KUMAR, N.; SINGH, B.; KAUL, V. K. Flavonoids from *Rosa damascena* Mill. **Nat Prod Commun**, v. 1, p. 623-626, 2006.

KUMAR, S.; GUPTA, R.; KALEEM, A.; PANDEY, A. Mitigation of pain and anaesthetic drugs. **OA Anaesthetics**, v. 2, n.1, p. 1-14, 2014.

KURKOV, S. V.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453(1), p. 167–180, 2013.

LAI, Y.; CHEN, Y.; WATKINS, S. C.; NATHANIEL, P. D.; GUO, F.; KOCHANNEK, P. M.; JENKINS, L. W.; SZABA, C.; CLARK, R. S. B. Identification of poly (ADP) ribosylated mitochondrial proteins after traumatic brain injury. **J. Neurochem**, v. 104, p. 1700-1711, 2008.

LAMBRECHTS, M.; PRETORIUS, I. Yeast and its importance to wine aroma-a review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 21, 2000.

LILLY, B. O.; BREWER, J. H. The selective antibacterial action of phenethyl alcohol. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v. 42, p. 6–8, 1953.

LIM, T. K. Y.; RONE, M. B.; LEE, S.; ANTEL, J. P.; ZHANG, J. Mitochondrial and bioenergetic dysfunction in trauma-induced painful peripheral neuropathy. **Mol. Pain**, v. 17, p. 11-58, 2015.

LIM, T. K.; SHI, X.Q.; MARTIN, H.C.; HUANG, H.; LUHESHI, G.; RIVEST, S.; ZHANG, J. Blood-nerve barrier dysfunction contributes to the generation of neuropathic pain and allows targeting of injured nerves for pain relief. **Pain**, v. 155, p. 954-967, 2014.

LOGHMANI-KHOUZANI, H.; SABZI-FINI, O.; SAFARI, J. Essential oil composition of *Rosa damascena* Mill cultivated in central Iran. **Scientia Iranica**, v. 14, p. 316-319, 2007.

LORENZ, M, D.; COATES, J. R.; KENT, M. Pain. In: Handbook of veterinary neurology. **Missouri: Elsevier Saunders**, 5 ed. p. 413-431, 2011.

LUO, Z. D.; CHAPLAN, S. R.; HIGUEIRA, E. S.; SORKIN, L.S.; STAUDERMAN, K.A.; WILLIAMS, M. E.; YAKSH, T. L. Upregulation of dorsal root ganglion  $\alpha 2 \delta$  calcium channel subunit and its correlation with allodynia in spinal nerve-injured rats. **Journal of Neuroscience**, v. 21(6), p. 1868-1875. 2001.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its Classification. **Chemico-Biological Interactions**, v. 224, p. 164–175, 2014.

MALFAIT, A. M.; SCHNITZER, T. J. Towards a mechanism-based approach to pain management in osteoarthritis. **Nat Rev Rheumatol**, v. 9, p. 654–664, 2013.

MALMBERG, A. B.; YAKSH, T. L. Hyperalgesia mediated by spinal glutamate or SP receptor blocked by spinal cyclooxygenase inhibition. **Science**, v. 257, p. 1276- 1279, 1992.

MALMBERG, A. B.; YAKSH, T. L. Pharmacology of the spinal action of ketorolac, morphine, ST-91, U50488H, and L-PIA on the formalin test and an isobalographic analysis of the NSAID interaction. **Anesthesiology**, v. 79, p. 270- 281, 1993.

MARRET, E.; KURDI, O.; ZUFFEREY, P.; BONNET, F. Effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on patient-controlled analgesia morphine side effects: meta-analysis of randomized controlled trials. **Anesthesiology**, v. 102, p. 1249-60, 2005.

MARTINO, L.; NAZARRO, R.; MANCINI, E.; DE FEO, V. Essential Oils from Mediterranean Aromatic Plants. In: *The Mediterranean Diet*, p. 649–661, 2015.

MCDOUGALL, J. J.; LINTON, P. Neurophysiology of arthritis pain. **Curr Pain Headache Rep**, v.16, p. 485–491, 2012.

MELZACK, R.; WALL, P. D. Pain mechanisms: a new theory. **Science**, v. 150, p.971–979, 1965.

MENDELL, L.M. Constructing and deconstructing the gate theory of pain. **Pain**, v. 155, p. 210-216, 2014.

MEYER, R. A.; RINGKAMP, M.; CAMPBELL, J. N.; RAJA, S. N. Peripheral mechanisms of cutaneous nociception. In *Wall and Melzack's Textbook of Pain*, S.B. McMahon and M. Koltzenburg, **Philadelphia: Elsevier**, p. 3–34, 2008.

MILNE, C. P. Prospects for Rapid Advances in the Development of New Medicines for Special Medical Needs. **State of the Art**, v. 95, n. 1, p. 98-109, 2014.

MOULIN, D.; BOULANGER, A.; CLARK, A. J.; CLARKE, H.; DAO, T.; FINLEY, G. A.; FURLAN, A.; GILRON, I.; GORDON, A.; MORLEY-FORSTER, P. K.; SESSLE, B. J.; SQUIRE, P.; STINSON, J.; TAENZER, P.; VELLY, A.; WARE, M. A.; WEINBERG, E. L.; WILLIAMSON, O. D. Pharmacological management of chronic neuropathic pain: revised consensus statement from the Canadian Pain Society. **Pain Res. Manag.**, v. 19, p. 328–335, 2014.

NAKAMURA, T.; LIPTON, S. A. Emerging roles of Snitrosylation in protein misfolding and neurodegenerative diseases. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 10, n. 1, p. 87– 101, 2008.

NEGI, G.; KUMAR, A.; SHARMA, S. S. Melatonin modulates neuroinflammation and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy: effects on NF-kB and Nrf2 cascades. **J. pineal Res.**, v. 50, p. 124-131, 2011.

NESS, T. J.; GEBHART, G. F. Visceral pain: a review of experimental studies. **Pain**, v. 41, p. 167–234, 1990.

NEUMANN, S.; BRAZ, J.M.; SKINNER, K.; LLEWELLYN-SMITH, I. J.; BASBAUM, A. I. Innocuous, not noxious, input activates PKC $\gamma$  interneurons of the spinal dorsal horn via myelinated afferent fibers. **J. Neurosci.**, v. 28, p. 7936–7944, 2008.

NGO, L. T.; OKOGUN, J. I.; FOLK, W. R. 21st Century natural product research and drug development and traditional medicines. **Nat Prod Rep**, v. 30, p. 584–592, 2013.

NGUELEFECK, P. O.; DUTRA, R. C.; PASZCUK, F. A.; ANDRADE, E. L.; TAPONDJOU, L. A.; CALIXTO, J. B. Antinociceptive activities of the methanol extract of the bulbs of *Dioscorea bulbifera* L. var *sativa* in mice is dependent of NO–cGMP–ATP sensitive – K<sup>+</sup> channel activation, **J. Ethnopharmacol**, v. 128, p. 567–574, 2010.

NIRAJ, G.; ROWBOTHAM, J. Persistent post-operative pain: where are we now? **Br J Anaesth**, v. 107, p. 25 – 29, 2011.

NYEEM, M. A. B.; ALAM, M. A.; AWAL, M. A.; MOSTOFA, M.; UDDIN, M.; ISLAM, S. J. N. CNS Depressant Effect of the Crude Ethanolic Extract of the Flowering Tops of *Rosa Damascena*. **Iran J Pharm Res**, v. 5, p. 171-174, 2006.

NYKÄNEN, L.; NYKÄNEN, I. Production of esters by different yeast strains in sugar fermentations. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 83, p. 30-31, 1977.

O'MALLEY, K. L.; JONG, Y.J.; GONCHAR, Y. BURKHALTER, A.; ROMANO, C. Activation of metabotropic glutamate receptor mGlu5 on nuclear membranes mediates intranuclear Ca<sup>2+</sup> changes in heterologous cell types and neurons. **J Biol Chem**, v. 278, p. 28210–28219, 2003.

OBATA, K.; KATSURA, H.; MIZUSHIMA, T.; SAKURAI, J.; KOBAYASHI, K.; YAMANAKA H.; DAI, Y.; FUKUOKA, T.; NOGUCHI, K. Roles of extracellular signal-regulated protein kinases 5 in spinal microglia and primary sensory neurons for neuropathic pain. **J. Neurochem**, v. 102, p. 1569–1584, 2007.

OBROSOVA, I. G.; LI, F.; ABATAN, O. I.; FORSELL, M. A.; KOMJATI, K.; PACHER, P.; SZABA, C.; STEVENS, M. J. Role of poly (ADP-ribose) polymerase activation in diabetic neuropathy. **Diabetes**, v. 53, p. 711–720, 2004.

OBROSOVA, I. G.; XU, W.; LYZOGUBOV, V. V.; ILNYTSKA, O.; MASHTALIR, N.; VARENIUK, I.; PAVLOV, I. A.; ZHANG, J.; SLUSHER, B.; DREL, V. R. PARP inhibition or gene deficiency counteracts intraepidermal nerve fiber loss and neuropathic pain in advanced diabetic neuropathy. **Free Radic Biol Med**, v. 44, p. 972–981, 2008.

OKA, N.; IKEGAMI, A.; OHKI, M.; SAKATA, K.; YAGI, A.; WATANABE, N. Citronellyl disaccharide glycoside as an aroma precursor from rose flowers. **Phytochemistry**, v. 47, p. 1527-1529, 1998.

OLD, E. A.; NADKARNI, S.; GRIST, J.; GENTRY, C.; BEVAN, S.; KIM, K. W.; MOGG, A. J.; PERRETTI, M.; MALCANGIO, M. Monocytes expressing CX3CR1 orchestrate the development of vincristine-induced pain. **J. Clin. Invest**, v.124, p. 2023–2036, 2014.

ONG, C. K. S.; LIRK, P.; TAN, C. H.; SEYMOUR, R. A. An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Clin Med Res**, v. 5, p. 19-34, 2007.

OSSIPOV, M. H.; DUSSOR, G. O.; PORRECA, F. Central modulation of pain. **J. Clin. Invest.**, v. 120, p. 3779–3787, 2010.

OTT, M.; GOGVADZE, V.; ORRENIUS, S.; ZHIVOTOVSKY, B. Mitochondria, oxidative stress and cell death. **Apoptosis**, v. 12, p. 913–922, 2007.

PATEL, N. B. Physiology of pain. In: KOPF, A.; PATEL, N. B. (Editores). Guide to pain management in low-resource settings. Amsterdam: International Association for the Study of Pain, p.13-18, 2010.

PEREZ, E. R.; Molecular physiology of low-voltage-activated t-type calcium channels. **Physiol. Rev.**, v. 83, p. 117–161, 2003.

PERL, E. R. Ideas about pain, a historical view. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 8, p. 71–80, 2007.

PÜNTMANN, I.; SCHMACKE, N.; MELANDER, A.; LINDBERG, G.; MÜHLBAUER, B. EVITA: a tool for the early Evaluation of pharmaceutical Innovations with regard to Therapeutic Advantage. **Bmc Clinical Pharmacology**, v. 10, n. 5, p. 1-11, 2010.

PURGERT, C. A.; IZUMI, Y.; JONG, Y. J.; KUMAR, V.; ZORUMSKI, C. F.; O'MALLEY, K. Intracellular mGluR5 can mediate synaptic plasticity in the hippocampus. **J Neurosci**, v. 34, p. 4589–4598, 2014.

RADI, R. Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant. **J. Biol. Chem**, v. 288, p. 26464–26472, 2013.

RAKHSHANDAH, H.; BOSKABADY, M. H.; MOSSAVI, Z.; GHOLAMI, M.; SABERI, Z. The Differences in the relaxant effects of different fractions of *Rosa damascena* on guinea pig tracheal smooth muscle. **Iran J Basic Med Sci**, v. 13, p. 126-132, 2010.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops & Products**, v. 62, p. 250–264, 2014.

- REINECCIUS, G. A.; YAN, C. Factors controlling the deterioration of spray dried flavourings and unsaturated lipids. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 31(1), p. 5–21, 2016.
- ROCHA, B. A.; RODRIGUES, M. R.; BUENO, P. C. P.; COSTA-MACHADO, A. R. M.; VAZ, M. M. O. L. L.; NASCIMENTO, A. P.; BARUD, H. S.; BERRETTA-SILVA, A. A. Preparation and thermal characterization of inclusion complex of Brazilian green propolis and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin Increased water solubility of the chemical constituents and antioxidant activity. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, p. 87–94, 2012.
- ROCHE, A. K.; COOK, M.; WILCOX, G. L.; KAJANDER, K. C. A nitric oxide synthesis inhibitor ( L-NAME) reduces licking behavior and Fos-labeling in the spinal cord of rats during formalin-induced inflammation. **Pain**, v. 66, p. 331-341, 1996.
- ROSENBERG, A. F.; WOLMAN, M. A.; FRANZINI-ARMSTRONG, C.; GRANATO, M. In vivo nerve-macrophage interactions following peripheral nerve injury. **Journal of Neuroscience**, v. 2, p. 3898–3909, 2012.
- RYTER, S. W.; ALAM, J.; CHOI, A. M. K. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. **Physiol. Rev.**, v. 86, p. 583-650, 2006.
- SALT, T. E. Metabotropic glutamate (mGlu) receptors and nociceptive processing. **Drug Dev. Res.**, v. 54, p. 129-139, 2002.
- SANDIREDDY, R.; YERRA, V. G.; KOMIRISHETTI, P.; ARETI, A.; KUMAR, A. Fisetin imparts neuroprotection in experimental diabetic neuropathy by modulating Nrf2 and NF-kB pathways. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 36 (6), p. 883-892, 2016.
- SASAKI, A.; MIZOGUCHI, S.; KAGAYA, K.; SHIRO, M.; SAKAI, A.; ANDOH, T. A mouse model of peripheral postischemic dysesthesia: involvement of reperfusion-induced oxidative stress and TRPA1 channel. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 351(3), p. 568–75, 2014.
- SAVVAS, S. M.; GIBSON, S. J. Overview of pain management in older adults. **Clin Geriatr Med**, v. 32(4), p. 635–650, 2016.
- SBED (2017). Sociedade Brasileira Para Estudo da Dor -. Classificação da Dor. Disponível em <<http://www.sbed.org.br/materias>>. Acesso em: 02.09.2017.
- SCHAIBLE, H. G.; EBERSBERGER, A.; NATURA, G. Update on peripheral mechanisms of pain: beyond prostaglandins and cytokines. **Arthritis Res Ther**, v. 13, p. 210, 2011.
- SCHAIBLE, H. G.; SCHMIDT, R. F. Effects of an experimental arthritis on the sensory properties of fine articular afferent units. **J Neurophysiol**, v. 54, p. 1109–1122, 1985.

SCHIBER, A.; MIHALEV, K.; BERARDINI, N.; MOLLOV, P.; CARLE, R. Flavonol glycosides from distilled petals of *Rosa amascene* Mill. **Z Naturforsch C**, v. 60, p. 379-84, 2005.

SCHLAEPFER, W. W.; BUNGE, R.P. Effects of calcium ion concentration on the degeneration of amputated axons in tissue culture. **The Journal of Cell Biology**, v. 59, p. 456–470, 1973.

SCHMIDT, B. V. K. J.; HETZERC, M.; RITTERC, H.; BARNER-KOWOLLIK, C. Complex macromolecular architecture design via cyclodextrin host/guest complexes. **Progress in Polymer Science**, v. 39, p. 235– 249, 2014.

SCOTT, R.P.W., in: Worsfold, P.; Townshend, A.; Poole, C. **Encyclopedia of Analytical Science**, Elsevier, Amsterdam, 2000.

SEMCHYSHYN, H. M.; LOZINSKA, L. M. Fructose protects baker's yeast against peroxide stress: potential role of catalase and superoxide dismutase. **FEMS Yeast Res**, v. 12, p. 761–773, 2012.

SKULACHEV, V. P. Mitochondria-targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain diseases. **J. Alzheimers Dis**, v. 28, p. 283–289, 2012.

SLUKA, K. A. Stimulation of deep somatic tissue with capsaicin produces long-lasting mechanical allodynia and heat hypoalgesia that depends on early activation of the cAMP pathway. **J Neurosci**, v. 22, p. 5687–5693, 2002.

SNIDER, W. D.; MCMAHON, S. B. Tackling pain at the source: new ideas about nociceptors. **Neuron**, v. 20, p. 629–632, 1998.

SOMMER, C.; KRESS, M. Recent findings on how proinflammatory cytokines cause pain: peripheral mechanisms in inflammatory and neuropathic hyperalgesia. **Neurosci Lett**, v. 361, p. 184–187, 2004.

STARK, D.; KORNMANN, H.; MUNCH, T.; SONNLEITNER, B.; MARISON, I.W.; VON, S. U. novel type of in situ extraction: use of solvent containing microcapsules for the bioconversion of 2-phenylethanol from l-phenylalanine by *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 83, p.376-385, 2003.

STEIN, C.; MILLAN, M. J.; HERZ, A. Unilateral inflammation of the hindpaw in rats as a model of prolonged noxious stimulation: alterations in behavior and nociceptive thresholds. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 31, p. 455–451, 1988.

STORY, G. M.; PEIER, A. M.; REEVE, A. J.; EID, S. R.; MOSBACHER, J.; HRICIK, T. R. ANKTM1, a TRP-like Channel Expressed in Nociceptive Neurons, Is Activated by Cold Temperatures. **Cell**, v. 112(6), p. 819–829, 2003.

SUKHOTINSKY, I.; DEVOR, M. Chapter 23 – Networks for the Modulation of Acute and Chronic Pain. In: FAINGOLD, C., BLUMENFELD, H. **Neuronal Networks in Brain Function, CNS Disorders, and Therapeutics**, p. 311-326, 2014.

SVENSSON, C. I.; ZATTONI, M.; SERHAN, C. N. Lipoxins and aspirin-triggered lipoxin inhibit inflammatory pain processing. **J. Exp. Med.**, v.204, p.245–252, 2007.

SVOBODA, K. P.; DEANS, S. G. Biological activities of essential oils from selected aromatic plants. **Acta Hort**, v. 390, p. 203-209, 1995.

SWAMYDAS, M.; SKOFF, A.M; ADLER, J.E. Partial sciatic nerve transection causes redistribution of pain-related peptides and lowers withdrawal threshold. **Experimental Neurology**, v.188, p. 444-451, 2004.

SZEJTLI, J.; **Chemistry Reviews**, v. 98, p. 1743. 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant Physiology. **Annals of Physics**, v. 54, p. 690. 2002.

TAN, T.; BARRY, P.; REKEN, S.; BAKER, M. Pharmacological management of neuropathic pain in non-specialist settings: summary of NICE guidance. **BMJ**, v. 340, p. 1079, 2010.

TANG, S. J. Synaptic activity-regulated Wnt signaling in synaptic plasticity, glial function and chronic pain. **CNS Neurol. Disord. Drug Targets**, v. 13, p. 737-744, 2013.

TEIXEIRA, M. J. Fisiopatologia da dor. In: ALVES NETO, O. Dor: Princípios e Prática (Org.). Porto Alegre: Artmed, p.145-175, 2009.

TRACEY, I.; MANTYH, P.W. The cerebral signature for pain perception and its modulation. **Neuron**, v. 55, n. 3, p. 377-391, 2007.

ULUSOY, S.; BOŞGELMEZ-TINAZ, G.; SEÇILMIŞ-CANBAY, H. Tocopherol, carotene, phenolic contents and antibacterial properties of rose essential oil, hydrosol and absolute. **Curr Microbiol**, v. 59, p. 554-558, 2009.

VALDUGA, E.; VALERIO, H. T.; NASCIMENTO FILHO, I.; FÚRIGO JÚNIOR, A.; LUCCIO, M. Head Space Solid Phase Micro-Extraction (HS-SPME) of volatile organic compounds produced by *Sporiobolus salmonicolor* (CBS 2636). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n.4, p. 987-992, 2010.

VINCENT, K.; CORNEA, V. M.; JONG, Y. J.; LAFERRIERE, A.; KUMAR, N.; MICKEVICIUTE, A.; FUNG, J. S.; BANDEGI, P.; RIBEIRO, A. S.; O'MALLEY, K. L.; CODERRE, T. J. Intracellular mGluR5 plays a critical role in neuropathic pain. **Nat Commun**, v. 7, p. 10604, 2016.

WALKER, S. M. Overview of neurodevelopment and pain research, possible treatment targets. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v.28, p. 213-228, 2014.

WANG, R.; LEWIN, G. R. The Cav3.2 T-type calcium channel regulates temporal coding in mouse mechanoreceptors. **J. Physiol**, v. 589, p. 2229–2243, 2011.

WAXMAN, S. G. Painful Na-channelopathies: an expanding universe. **Trends Mol Med**, v. 19, p. 406–409, 2013.

WHEELER, H. A.; PORRECA, F.; Cowan, A. The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. **Pain**, v. 40, p. 229- 238, 1990.

WHITE, P.; KEHLET, H. Improving post-operative pain management. **Anesthesiol**, v. 112, p. 220- 225, 2010.

WOOLF, C. J. Central sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain, **Pain**, v. 152, n. 3, p. 2-15. 2011.

WOOLF, C. J. Evidence for a central component of post-injury pain hypersensitivity. **Nature**, v. 306, p. 686–688, 1983.

WU, C. J.; HUANG, Q. W.; QI, H. Y. Promoting effect of natural borneol on the permeability of puerarin eye drops and timolol maleate eye drops through the cornea in vitro. **Die Pharmazie**, v. 61, p. 783–8, 2006.

WU, L. J.; KO, S.W.; ZHUO, M. Kainate receptors and pain: from dorsal root ganglion to the anterior cingulate cortex. **Curr. Pharm. Des.**, v. 13, p. 1597-1605, 2007.

XU, Q.; ZHANG, X. M.; DUAN, K. Z.; GU, X. Y.; HAN, M.; LIU, B. L.; ZHAO, Z. Q.; ZHANG, Y. Q. Peripheral TGF- $\beta$ 1 signaling is a critical event in bone cancer-induced hyperalgesia in rodents. **Journal of Neuroscience**, v. 33, p. 19099–19111, 2013.

YASSA, N.; MASOOMI, F.; ROHANI, S. E. R.; HADJIAKHOONDI, A. Correspondence chemical composition and antioxidant activity of the extract and essential oil of *Rosa damascena* from Iran, Population of Guilan. **Daru**, v. 17, p. 175-180, 2009.

YERRA, V. G.; NEGI, G.; SHARMA, S. S.; KUMAR, A.; Potential therapeutic effects of the simultaneous targeting of the Nrf2 and NF- $\kappa$ B pathways in diabetic neuropathy. **Redox Biol.**, v. 1, p. 394-397, 2013.

ZHANG, J.; XIAO, Y. D.; JORDAN, K. G.; HAMMOND, P. S.; VANDYKE, K. M.; MAZUROV, A. A.; SPEAKE, J. D.; LIPPIELLO, P. M.; JAMES, J. W.; LETCHWORTH, S. R.; BENCHERIF, M.; HAUSER, T. A. Analgesic effects mediated by neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonists: Correlation with

desensitization of  $\alpha 4\beta 2$  receptors. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 5, p. 813-823, 2012.

ZHUANG, Z. Y.; WEN, Y. R.; ZHANG, D. R.; BORSELLO, T.; BONNY, C.; STRICHARTZ, G. R.; DECOSTERD, I.;JI, R. R. A peptide c-Jun N-terminal kinase (JNK) inhibitor blocks mechanical allodynia after spinal nerve ligation: respective roles of JNK activation in primary sensory neurons and spinal astrocytes for neuropathic pain development and maintenance. **J. Neurosci**, v. 26, p. 3551–3560, 2006.

## Capítulo 2

---

**Prospecção científica e tecnológica do estudo das atividades biológicas e aplicações do 2-Feniletanol**

## RESUMO

---

O 2-Feniletanol (2-FE) é um álcool aromático, derivado de óleos essenciais, com um aroma leve e duradouro de rosas. Muito utilizado na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica. O objetivo do estudo foi realizar uma busca literária do 2-FE utilizando informações disponíveis em bancos de dados científicos e tecnológicos. A busca foi baseada em artigos científicos e pedidos de depósitos de patentes e suas aplicações em várias áreas dentre elas Biotecnologia e aplicação em microbiologia e Farmacologia e Farmácia e utilizou-se para isto as palavras-chave 2-Feniletanol e associada com os termos antinociceptivo, antioxidante, neuropatia e anti-inflamatório no idioma inglês, espanhol e português. Os critérios de inclusão foram artigos com resumos e textos completos sobre atividades biotecnológicas e farmacológicas e os pedidos de depósito de patentes nos períodos de janeiro de 2005 a agosto de 2017, utilizando as bases de dados científicos *Science Direct*, *Pub Med*, *Web of Science* e *Scopus* e tecnológicas *European Patent Office (EPO)*, *World Intellectual Property Organization (WIPO)*, *United States Patent and Trademark Office (USPTO)*, *Derwent Innovations Index<sup>®</sup> (DII)*, *Banco Latinoamericano de Patentes (LATIPAT)* e *Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI)*. Foram selecionados 561 artigos e 172 patentes sendo encontrado publicações envolvendo o 2-FE e sua utilização como aromatizante, conservante, antioxidante, anti-inflamatório e biocombustível. O número de artigos publicados foi bem reduzido onde se faz necessário uma compreensão maior da importância do 2-FE para o crescimento farmacológico econômico e tecnológico e os dados tecnológicos apresentaram o emprego na indústria de alimentos, cosméticos.

Palavras-chave: 2-feniletanol; óleos essenciais; álcool aromático; antioxidante; anti-inflamatório.

## Abstract

---

2-Phenylethanol (2-FE) is an aromatic alcohol, derived from essential oils, with a light and long lasting aroma of roses. Very used in the food, cosmetic and pharmaceutical industries. The objective of the study was to perform a 2-FE literary search using information available in scientific and technological databases. The search was based on scientific articles and applications of patent deposits and their applications in several areas among them Biotechnology and application in microbiology and Pharmacology and Pharmacy and the keywords 2-Phenylethanol and associated with the terms antinociceptive, antioxidant, neuropathy and anti-inflammatory in English, Spanish and Portuguese. The inclusion criteria were articles with abstracts and full texts on biotechnological and pharmacological activities and patent filing applications from January 2005 to August 2017, using the scientific databases Science Direct, Pub Med, Web of Science and European Patent Office (EPO), the World Intellectual Property Organization (WIPO), the United States Patent and Trademark Office (USPTO), the Derwent Innovations Index® (DII), the Latin American Patent Bank (LATIPAT) and the National Institute of Intellectual Property ( INPI). A total of 561 articles and 172 patents were selected, and publications containing 2-FE have been found and their use as a flavoring, preservative, antioxidant, anti-inflammatory and biofuel. The number of published articles was very small, where a greater understanding of the importance of 2-FE for the economic and technological pharmacological growth is necessary and the technological data presented the employment in the food industry, cosmetics.

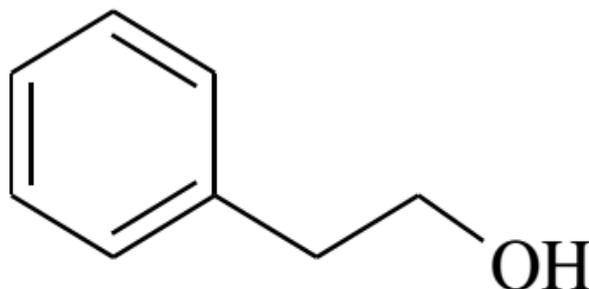
Keywords: 2-phenylethanol; essential oils; aromatic alcohol; antioxidant; anti-inflammatory.

## 1 INTRODUÇÃO

---

O 2-Feniletanol (2-FE) é uma substância aromática volátil com um aroma leve de rosas e muito utilizado na modulação de várias essências com aplicação na indústria alimentícia e cosmética. Essa substância química possui várias denominações sendo conhecida também como álcool 2-feniletílico, álcool  $\beta$ -feniletílico, benzil carbinol,  $\beta$ -hidroxi-etil-benzeno (ETSCHMANN et al., 2002; XU et al., 2007). Apresenta fórmula molecular  $C_8H_{10}O$  e sua fórmula estrutural está representada na Figura 2.1.

**Figura 2.1** - Fórmula estrutural do 2-Feniletanol



O 2-FE é encontrado em óleos essenciais extraídos a partir de flores e frutos, tendo na sua produção várias limitações devido ao clima, região, custo e eficiência na produção. Para que a rápida ascensão e demanda seja atendida, o 2-FE pode ser produzido através de síntese química (XU et al., 2007; MEI et al., 2009).

O 2-FE é obtido por extração a partir de óleos essenciais de flores, porém esse processo rende baixas taxas de recuperação e alto custo de produção. Pode ser sintetizado pela via de Ehrlich em microrganismos e estudos anteriores mostram a utilização de leveduras, através de mutagênese ultravioleta, no intuito de otimizar as condições de cultura ou engenharia metabólica utilizando o aminoácido aromático L-fenilalanina como substrato para uma concentração máxima de 2-FE (CUI et al, 2008; MEI et al, 2009; HUA et al. 2010; KIM; CHO; HAHN, 2014).

Devido às restrições na extração e cultivos de plantas, foram realizadas tentativas de obtenção utilizando metabolitos secundários como flavorizantes por meio de cultivo de células e utilização de biotecnologia para a produção em larga escala desses compostos (HAVKIN-FRENKEL; BELANGER, 2008).

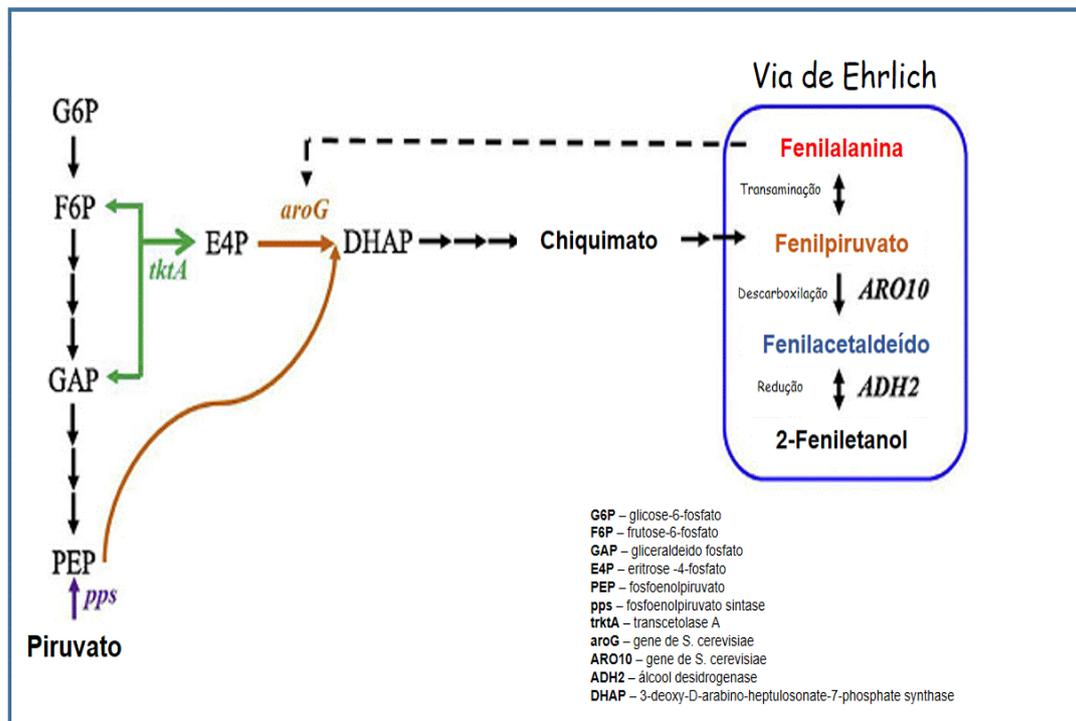
A utilização de fungos filamentosos como *Aspergillus niger*, *Polyporus tuberaster* e *Ischnoderma benzoinum* tem proporcionado bons rendimentos. *Ischnoderma benzoinum* por sua vez, metabolizam a L-fenilalanina, levando a formação de 2-FE e álcool benzílico (LOMASCOLO et al., 1999; ETSCHMANN et al., 2002; LOMASCOLO et al., 2003).

Leveduras como as *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula anomala* e várias cepas de *Kluyveromyces* possuem capacidades de produção de 2-FE a partir da utilização do substrato L-fenilalanina. *Pichia fermentans* L5, uma cepa isolada do solo, também possui capacidade de produção do 2-FE (STARK et al., 2003).

Ehrlich demonstrou em primeira mão que estes álcoois são formados a partir de aminoácidos correspondentes por meio da ação de enzimas. A partir desta descoberta foi criada a chave de sequência para a via de Ehrlich: transaminase, descarboxilase e álcool desidrogenase (BIDAN, 1975; HAZELWOOD et al, 2008).

Os aminoácidos assimilados na via de Ehrlich como a valina, metionina, isoleucina e fenilalanina são absorvidos de forma lenta ao longo do tempo de fermentação. Na produção de 2-FE pela via de Ehrlich (Figura 2.2) ocorre a transaminação do aminoácido fenilalanina e sua conversão em um  $\alpha$ -cetoácido, o fenilpiruvato. Em seguida este sofre uma descarboxilação pela descarboxilase do gene de fenilpiruvato (ARO10) formando o fenilacetaldeído que por sua vez sofre um processo de redução por intermédio da álcool-desidrogenase de *S. cerevisiae* (ADH2) (JONES; PIERCE, 1964; KIM; CHO; HAHN, 2014).

**Figura 2.2** - Via de Ehrlich na formação do 2-Feniletanol a partir do aminoácido Fenilalanina



**Fonte:** Adaptado de Kim; Cho; Hahn (2014)

A rota também pode alterar a via da glicólise, por meio da ação da transcetolase A de *E. coli* (*tktA*) que pode condensar frutose-6-fosfato (F6P) e gliceraldeído-fosfato (GAP) em eritrose-4-fosfato (E4P), que por intermédio do gene *aroG* ou por ação de fosfoenolpiruvato sintase (*pps*) produz 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate synthase (DHAP sintase), entrando na via do Chiquimato e produzindo fenilpiruvato para utilização na via de Ehrlich (DICKINSON et al., 2003).

O 2-FE ainda continua sendo alvo de muitas pesquisas no intuito que sua produção em larga escala possa ser utilizada na indústria alimentícia e desenvolvimento de novas pesquisas. Dessa forma, sabendo-se da utilização do 2-FE em várias áreas tecnológicas, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão científica e tecnológica do 2-FE em relação a sua ampla utilização, resumindo as pesquisas já desenvolvidas, utilizando informações disponíveis em bancos de dados científicos e tecnológicos.

## 2 MÉTODO DE PESQUISA E CRITÉRIOS DE SELEÇÃO

---

A prospecção científica e tecnológica do 2-FE foi baseada em artigos científicos e pedidos de depósitos de patentes e suas aplicações em várias áreas dentre elas Biotecnologia e aplicação em microbiologia e Farmacologia e Farmácia. A busca na literatura científica foi realizada utilizando as palavras-chave 2-Feniletanol e suas associações com os termos  $\beta$ -ciclodextrina, antinociceptivo, antioxidante, neuropatia e anti-inflamatório e 2-Feniletanol e  $\beta$ -ciclodextrina com os termos antinociceptivo, antioxidante, neuropatia e anti-inflamatório nos idiomas inglês, espanhol e português.

As bases de dados pesquisadas foram o *Science Direct*, *Pub Med*, *Web of Science* e *Scopus*. Em seguida, os artigos foram selecionados de acordo com os seguintes critérios de inclusão do estudo: artigos com resumos e textos completos que retratavam várias atividades dentre elas suas aplicações biotecnológicas e farmacológicas. Para a remoção de duplicatas, foi utilizado o programa EndNote® X7 (Thomson Reuters; New York; USA). O espaço de tempo delimitado para o estudo foram os artigos publicados de janeiro de 2005 a agosto de 2017.

As buscas pelas patentes foram realizadas nas bases de dados tecnológicas *European Patent Office* (EPO), *World Intellectual Property Organization* (WIPO), *United States Patent and Trademark Office* (USPTO), *Derwent Innovations Index*® (DII), *Banco Latinoamericano de Patentes* (LATIPAT) e *Instituto Nacional de Propriedade Intelectual* (INPI) utilizando como delimitação, os pedidos de depósito de patentes nos períodos de janeiro de 2005 a agosto de 2017. O período de coleta dos dados científicos e tecnológicos se deram nos meses de junho e agosto de 2017 e os resultados foram tratados utilizando o programa GraphPad Prisma (versão 6.0).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

### 3.1 Prospecção científica

De acordo com o número de artigos publicados nas bases de dados, o termo 2-Feniletanol apresentou um total de 561 artigos e distribuídos nas bases de dados com um total de 35 no Science Direct, 62 artigos no Web of Science, 436 no PubMed e 28 no Scopus. Quando realizada a busca ao 2-Feniletanol associado com outros descritores, um número considerado foi encontrado. No que se referiu ao 2-Feniletanol e Antioxidante totalizou-se 45 artigos, divididos nas bases de dados Science Direct com um total de 06 artigos, Web of Science com 08 artigos, PubMed com 14 e Scopus com 13 artigos publicados (Tabela 2.1).

Em relação ao descritor 2-Feniletanol e Anti-inflamatório foram encontrados 35 artigos divididos nas bases de dados Science Direct com 28 artigos, Web of Science com 01 artigo, PubMed com 5 e Scopus com 01 artigo. Em relação aos descritores 2-Feniletanol e  $\beta$ -ciclodextrina e sua associação com os demais termos, não foram encontrados nenhum resultado (Tabela 2.1).

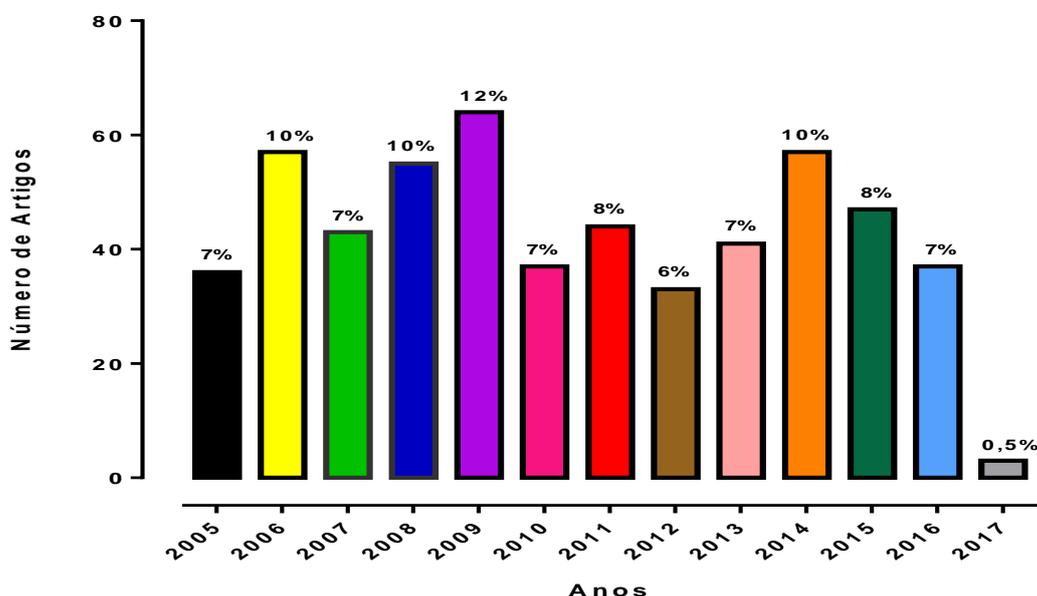
Depois de uma reavaliação dos artigos, a escala de tempo do número de publicações foi observada (Figura 2.3). No decorrer dos anos é visível uma oscilação entre o número de publicações em relação aos anos mostrando uma elevação de 10% no ano de 2006 e 2008, seguido de um crescimento de 12% no ano de 2009 e mantendo-se nessa media em 2014 com 10%. Agosto de 2017 apresenta uma parcela significativa de artigos (7%) mostrando um interesse elevado dos grupos de pesquisa sobre esse composto isolado.

**Tabela 2.1** – Numero de artigos científicos publicados nas bases de dados *Science Direct*, *Web of Science*, *Pub Med* e *Scopus* por palavras-chave no período de 2005 a 2017

Palavras-chave	Science Direct	Web of Science	Pub Med	Scopus
<i>2-phenylethanol</i>	35	62	436	28
<i>2-phenylethanol and antinociceptive</i>	-	-	-	-
<i>2-phenylethanol and neuropathy</i>	-	-	-	-
<i>2-phenylethanol and antioxidant</i>	07	08	14	13
<i>2-phenylethanol and Anti-inflammatory</i>	28	01	5	01
<i>2-phenylethanol and <math>\beta</math>-cyclodextrin</i>	-	-	-	-
<i>2-phenylethanol and <math>\beta</math>-cyclodextrin and antinociceptive</i>	-	-	-	-
<i>2-phenylethanol and <math>\beta</math>-cyclodextrin and neuropathy</i>	-	-	-	-
<i>2-phenylethanol and <math>\beta</math>-cyclodextrin and antioxidante</i>	-	-	-	-
<i>2-phenylethanol and <math>\beta</math>-cyclodextrin and Anti-inflammatory</i>	-	-	-	-

**Fonte:** Do próprio autor (2017)

**Figura 2.3** - Evolução anual das publicações referente ao 2-FE nas bases de dados *Science Direct*, *Web of Science*, *PubMed* e *Scopus*

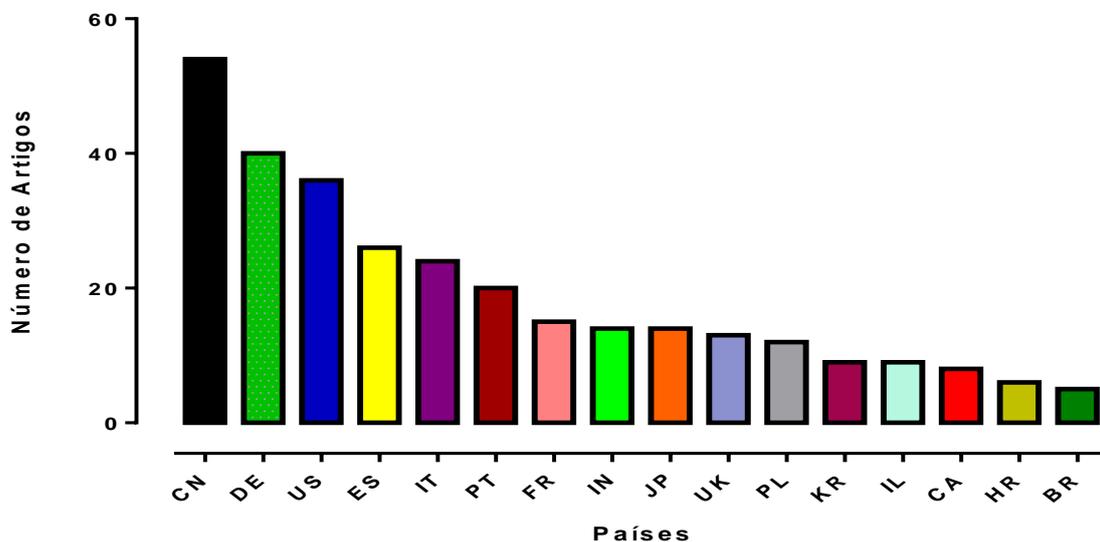


## 3.2 Aplicações biotecnológicas e farmacológicas do 2-FE

### 3.2.1 Principais utilizações biotecnológicas

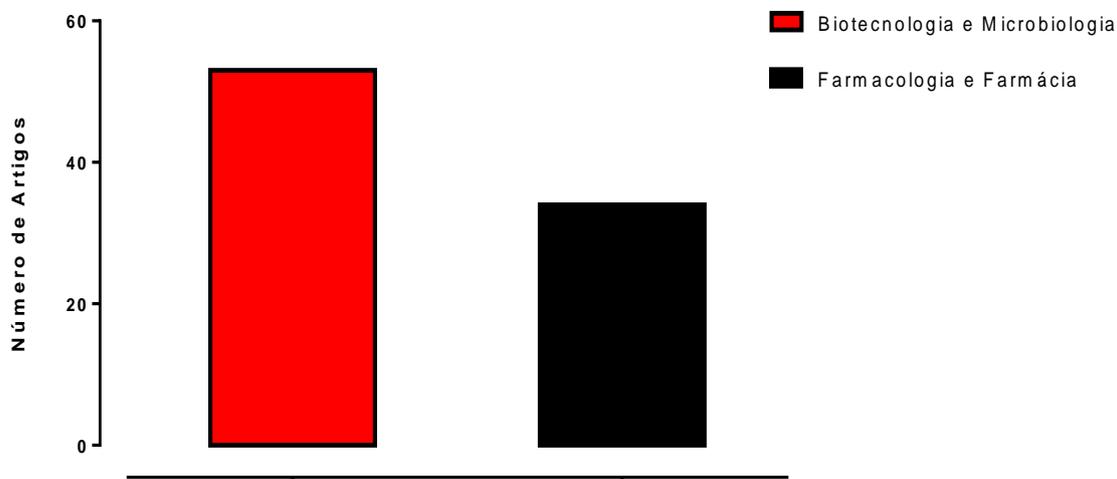
A maioria dos artigos fazem associações do 2-FE com sua utilização na indústria alimentícia, perfumaria e cosméticos (ATSUMI et al, 2008; ETSCHMANN et al, 2002). Embora ele possa ser sintetizado quimicamente, a legislação dos Estados Unidos e Europa restringem sua utilização de síntese química apenas nos setores da indústria, cosméticos e perfumaria (XU et al, 2007). A Figura 2.4 mostra Países como a China (CN) com 54 artigos, Alemanha (DE) com 40 artigos, Estados Unidos (US) com 36 artigos, Espanha (ES) com 26 artigos e Itália (IT) com 24 são detentores dos maiores números de publicação e isso pode ser devido ao fato de esses países possuírem um maior investimento em tecnologia, embora outros países demonstrem também o interesse pela utilização do 2-FE.

**Figura 2.4** - Numero de publicações nos países referente ao 2-FE nas bases de dados *Science Direct*, *Web of Science*, *PubMed* e *Scopus*



Dentre as avaliações com o 2-FE na base de dados *Web of Science* e *Scopus*, foi possível observar que os artigos poderiam ser classificados quanto aos temas Biotecnologia e aplicação em Microbiologia e Farmacologia e Farmácia. A Figura 2.5 mostra dentro dos temas Biotecnologia e aplicação em Microbiologia e Farmacologia e Farmácia um número considerado de artigos científicos totalizando 53 e 34 artigos respectivamente.

**Figura 2.5** - Numero de publicações do 2-FE referentes aos temas Biotecnologia e Aplicação em Microbiologia na base de dados *Web of Science* e *Scopus*



Quando se fala na sua aplicação em Biotecnologia e Microbiologia, pode-se enfatizar sua produção em larga escala. O 2-FE pode ser usado na produção de vinhos, proporcionando-lhe aroma com notas doces e florais consideradas como características positivas (WONDRA; BEROVIC, 2001). A utilização do 2-FE também se destaca na química de polímeros e como um álcool potencialmente valioso para a próxima geração de biocombustíveis e devido a sua produção ser a partir de aminoácidos, a busca por novas tecnologias para sua produção em larga escala é grande.

Zhang e colaboradores (2014), destacam o estudo de uma nova estirpe de bactérias identificadas como *Enterobacter* sp. CGMCC 5087, que produz 2-FE através da via do fenilpiruvato, capaz de utilizar monossacarídeos renováveis como fonte de carbono e de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  como fonte de azoto (nitrogênio) para produzir 2-FE.

### 3.2.2 Aplicações Farmacológicas

O uso do 2-FE pede ser também destacado nos campos de pesquisa em Farmacologia e Farmácia. Os estudos mostraram a presença de 2-FE (40 a

61%) como componente majoritário no óleo essencial de flores de *Magnolia virginiana*, a qual exibe atividades contra linhagens de células de carcinoma de pulmão e de mama (FARAG; AL-MAHDY, 2013).

Estudos com metabólitos secundários presentes em plantas mostrou várias atividades antioxidantes e proteção contra danos oxidativos celulares (MAGANHA et al., 2010). Muitos desses metabólitos são compostos voláteis, produzidos em tecidos vegetais em fases específicas como florescimento e maturação, dos quais apenas uma pequena proporção deles gerem uma “marca biológica de sabor”, ajudando no reconhecimento necessário do alimento (GOFF; KLEE, 2006).

Na Tabela 2.2, mostra uma compilação dos estudos envolvendo 2-FE apresentando várias utilizações, dentre elas como componente ativo no controle de bactérias patogênicas de origem alimentar, composto majoritário em plantas podendo ser explorado como fonte natural para controle de espécies de ervas daninhas invasoras, componente encontrado em compostos com atividades antioxidantes e apoptótica contra células cancerígenas do cólon e indução na diferenciação de células leucêmicas, como também sua utilização em anti-microbianos, anti-sépticos, desinfetantes e conservante em produtos farmacêuticos.

De acordo com a Figura 2.6, os dados mostram que as publicações ocorreram a partir de 2008 com apenas 2% de artigos publicados, porém ocorreu um aumento nos anos subsequentes, mostrando um ápice de 20% em 2013 e um leve declínio nos anos posteriores. Em 2016, apresentou uma porcentagem de 8% e 2017 apresentou a porcentagem de 5% até agosto de 2017, podendo ter um aumento devido o composto apresentar um interesse no desenvolvimento nesta área de estudo.

**Tabela 2.2** - Publicações referente ao descritor 2-Feniletanol e Antioxidante e 2-Feniletanol e Anti-inflamatório nas bases de dados *Science Direct*, *Web of Science*, *Pub Med* e *Scopus* no período de 2005 a 2017

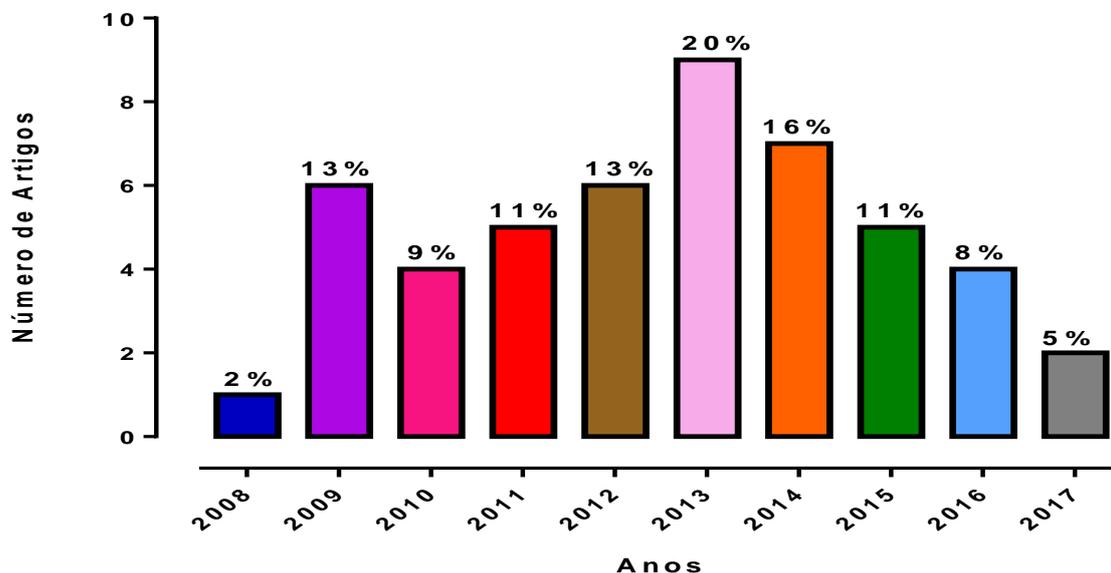
Ano/Autor	Título	Periódico	Principais resultados
Serrelli et al., 2017	Evaluation of natural occurring bioactive compounds and antioxidant activity in Nuragus white wines	Food Research International	Os vinhos de Nuragus possui atividade antioxidante. Os dados obtidos podem ajudar os produtores de vinho Nuragus a promover este vinho monovarietal como um complemento associado à dieta mediterrânea. Dentre os principais componentes voláteis estão o <b>2-feniletanol</b> (12,3-40,0%) na sua composição.
Yu et al., 2015	Identification of antibacterial and antioxidant constituents of the essential oils of <i>Cynanchum chinense</i> and <i>Ligustrum compactum</i>	Natural Product Research	Determinação da composição química e isolamento de substâncias com propriedades antioxidantes e antibacterianas do óleo essenciais de <i>Cynanchum chinense</i> e <i>Ligustrum compactum</i> . Trinta e oito componentes foram identificados em óleos essenciais e com base no fracionamento guiado por bioatividade, o <b>2-Feniletanol</b> foi isolado e identificado como um dos componentes ativos, apresentando alta atividade antioxidante, no controle de bactérias patogênicas de origem alimentar.
Loizzo et al, 2013	Phenolics, aroma profile, and in vitro antioxidant activity of Italian dessert passito wine from Saracena (Italy)	Journal of Food Science	Foi avaliada a atividade antioxidante e perfil de aroma em Saracena, produzida a partir do vinho de uvas brancas. Através de microextração em fase sólida com cromatografia gasosa e espectrometria de massas (GC-MS), foram identificados dentre os compostos fenólicos a presença de álcoois superiores, dentre eles o <b>2-Feniletanol</b> .

Ano/Autor	Título	Periódico	Principais resultados
Dallali et al., 2014	Phytotoxic effects of volatile oil from <i>Verbena</i> spp. on the germination and radicle growth of wheat, maize, linseed and canary grass and phenolic content of aerial parts	Allelopathy Journal	Foram investigados os constituintes voláteis e atividade antioxidante de partes aéreas <i>Verbena officinalis</i> L. e <i>Verbena supina</i> L. apresentando na constituição do óleo essencial, substâncias como o <b>2-feniletanol</b> . O óleo essencial de <i>V. officinalis</i> mostrou atividade antioxidante e aleloquímicos dessas espécies podem ser utilizados no controle de espécies de ervas daninhas.
Castro et al., 2012	Saccharomyces cerevisiae Oxidative Response Evaluation by Cyclic Voltammetry and Gas Chromatography -Mass Spectrometry	Journal of Agricultural and Food Chemistry	O estudo sugere uma avaliação no metabolismo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , no perfil de compostos com capacidade antioxidante em um vinho sintético durante a fermentação, abordando uma conduta bioanalítica e classificação de amostras através de características eletroquímicas e bioquímicas. Durante o processo foi verificado que o ácido acético, <b>2-Feniletanol</b> e acetato de isoamila contribuem de forma significativas durante a fermentação alcoólica, mostrando um padrão similar aos vinhos normais.
Amir et al., 2012	Essential Oil Composition and Bioactivities of <i>Mimusops elengi</i> Flowers	Latin American Journal of Pharmacy	O estudo caracteriza a presença de 50 substâncias existentes no óleo essencial de flores de <i>Mimusops elengi</i> . A identificação foi feita por GC capilar e GC/MS, dos quais o <b>2-Feniletanol</b> é o constituinte majoritário. O óleo apresentou atividade antibacteriana, antibacteriana e anti-inflamatória e inibição seletiva de COX-1.

Ano/Autor	Título	Periódico	Principais resultados
Yamamoto et al., 2011	Synthesis of novel phospholipids that bind phenylalkanols and hydroquinone via phospholipase D-catalyzed transphosphatidylation	New Biotechnology	O estudo concentrou-se no processo de transfosfatidilação de fenilalcoois funcionais, por enzima lipolítica usada para hidrolisar ligações fosfodiéster nos fosfolípidios (PLD) a partir de <i>Streptomyces</i> sp. utilizando dentre outros componentes encontrados no óleo de oliva, o <b>2-Feniletanol</b> . O óleo de oliva apresenta atividades antioxidantes, apoptótica contra células cancerígenas do cólon e indução na diferenciação de células leucêmicas.
Kodym et al., 2006	Physical and chemical properties and stability Of sodium cefazolin in buffered eye drops determined With HPLC method	Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research	O estudo mostra o uso de <b>2-Feniletanol</b> na estabilidade e conservação de medicamentos, além de promover outras atividades conferindo a formulação do colírio ceftazidime, atividade antimicrobiana, quando numa concentração de 0,4 mg/ml, com eficácia contra cepas de bactérias <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 e <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404 e <i>Listeria monocytogenes</i> .

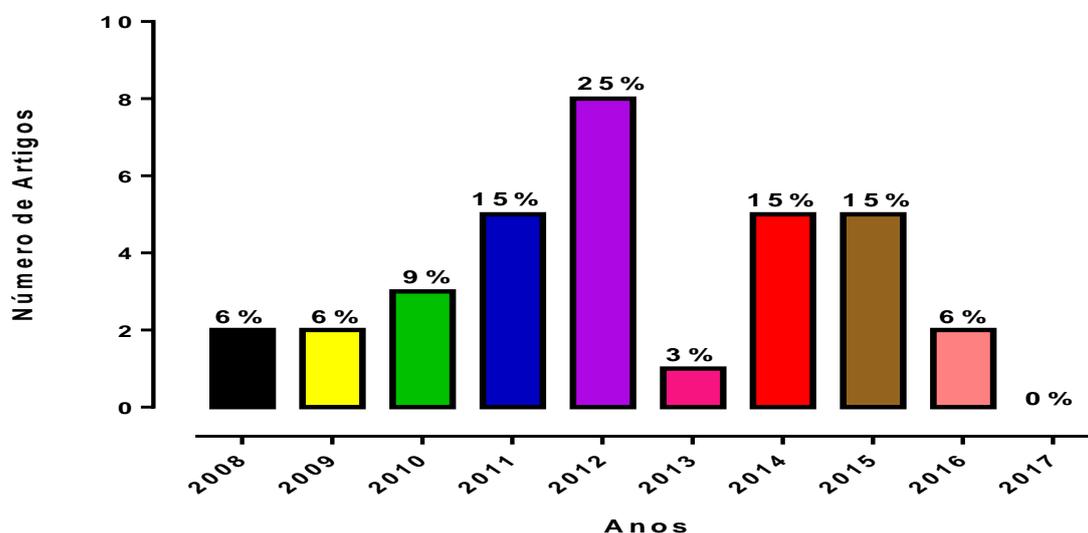
**Fonte:** Próprio autor (2017)

**Figura 2.6** - Evolução anual das publicações referente ao 2-Feniletanol e Antioxidante e nas bases de dados *Science Direct*, *Web of Science*, *PubMed* e *Scopus*



A Figura 2.7 mostra que o uso do 2-FE associado a anti-inflamatórios teve um aumento no número de publicação a partir de 2008, chegando a 25% em 2012, houve uma queda em 2013 e voltou a crescer em 2014 e 2015. Em maio de 2016 foram contabilizados 6% no número de publicações e acredita-se que este número possa aumentar devido ao interesse nos estudos deste composto associados com anti-inflamatórios.

**Figura 2.7** - Evolução anual das publicações referente ao e Anti-inflamatório nas bases de dados *Science Direct*, *Web of Science*, *PubMed* e *Scopus*



### 3.3 Prospecção Tecnológica

Para mais informações a revisão tecnológica foi realizada em bases de dados de patentes depositadas no período de junho de 2005 a agosto de 2017. Os critérios de inclusão para a seleção de patentes foram: as publicadas em Inglês, Espanhol ou Português, com as palavras chaves 2-Feniletanol, antinociceptivo, anti-inflamatório, antioxidante e neuropatia, no título, resumo e no texto completo. Foram encontradas patentes com o termo 2-phenylethanol com um total de 100, 70 e 6 nas bases de dados DII, WIPO E USPTO respectivamente. No que se refere ao campo de aplicação em Biotecnologia e aplicação em Microbiologia e aplicação em Farmacologia e Farmácia, as Tabelas 2.3 e 2.4 sumarizam as patentes encontradas. Pode-se observar também uma quantidade de patentes significativa na área biotecnológica, mostrando seu uso promissor nesse campo (Figura 2.8).

**Tabela 2.3** - Patentes relacionadas às aplicações tecnológicas do uso do 2 Feniletanol usadas em Biotecnologia e aplicação em Microbiologia

Número da patente	CIP	Inventor ou depositário	Título	Inovação	Ano
CN101016517-A CN100494343-C	C12N C12P	Cui Z Yang X Wang K Zhu Y Zhu T [41]	<i>Saccharomyces</i> CWY132 for brewing and its application in the preparation of 2-phenylethanol by the fermentation microorganism	A invenção descreve o uso de <i>Saccharomyces</i> CWY132 na fabricação de cerveja. As vantagens são o período curto de fermentação e elevada temperatura de fermentação. A invenção pode ser usada na produção de álcool por fermentação, o investimento de produção é pouco, o rendimento é alto e é propício à produtora industrial.	2008
WO2008098227-A US2009081746-A1 AU2008212799-A EP2118266-A2 KR2009117739-A CA2678261-A1 CN101688175-A MX2009008416-A1 JP2011510611-W RU2009133805-A MX303600-B CN103540559-A US8975049-B2 BR200807235-A2 US2015376656-A1	C12N C12P C10L	Liao JC Atsumi S Smith KM, Shen RC Cann AF Connor MR Cann A Connor M Liao J Shen RP Smith K Shota A Atsumi SH [22]	A novel recombinant microorganism useful for producing an alcohol, for example 1-propanol, isobutanol, 1-butanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol and 2-phenylethanol	A invenção descreve o uso de um microorganismo recombinante que produz o 2-feniletanol a partir de um metabolito que compreende o 2-ceto-ácido.	2008

Número da patente	CIP	Inventor ou depositário	Título	Inovação	Ano
CN101157940-A	C12N C12P C12R	Mei J Chen H Ying G Wang H Yi Y Chen J [41]	Natural preparation of 2-phenylethanol, involves inoculation of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , adding L-phenylalanine, carrying out table oscillation or stirring of air and transforming the medium into organic solvent and obtaining 2-phenylethanol	A invenção descreve o preparo natural de 2-feniletanol, envolvendo o uso de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> como biocatalisador, por acréscimo de L-fenilalanina como substrato produzido por catalisadores ou <i>zymotechnics</i> , onde o solvente é o ácido oleico ou polipropileno. O método é útil para a preparação de 2-feniletanol natural (reivindicada)	2008
JP2011030530-A	A23L C12N C12P	Sugiyama M Kumagai T [35]	Lactic acid producing bacteria capable of generating 2-phenylethanol used in the composition to provide increased fragrance to the food product by introducing mutations into bacteria and selecting phenylalanine analogous to resistant strain	A invenção descreve o uso de bactérias produtoras de ácido láctico capaz de gerar 2-feniletanol, pela mutação em bactérias e seleção de cepas resistentes, análogas a bactérias que produzem a fenilalanina a partir do ácido láctico. O método é útil para a geração de 2-feniletanol, que é utilizado na composição da fragrância em produtos alimentares (todos reivindicados), detergentes e cosméticos.	2011
WO2011037598-A1	C12N	Liao JC Atsumi S [19]	A novel recombinant photo-autotrophic microorganism comprising the expression of heterologous/superexpression of the endogenous carbon-fixing enzyme useful for the production of alcohol, for example 1-propanol, and 2-phenylethanol from carbon dioxide as a source of carbono	A invenção descreve um microorganismo fotoautotrófico recombinante que produz o 2-feniletanol a partir de dióxido de carbono, utilizados na produção de biocombustíveis. O álcool é produzido a partir de um metabólito contendo 2-cetoácido, que compreende a expressão de um heterólogo ou a super-expressão de uma enzima de fixação de carbono endógeno.	2011

Número da patente	CIP	Inventor ou depositário	Título	Inovação	Ano
CN102392055-A	C12P	Rong S Zhang X Guan S Ding B Chen Y [05]	Preparation of 2-phenylethanol comprises selection of active dry yeast capable of oxidising to degrade the alcohol; uses L-phenylalanine as the substrate and alcohol as the sole source of carbon for fermentation	A invenção descreve a preparação de 2-feniletanol (reivindicada). O método oxida e degrada o álcool pela levedura e converte em 2-feniletanol; reduz a possibilidade de contaminação microbiológica no processo de bioconversão e a possibilidade de impureza orgânica no caldo de fermentação com 2-feniletanol; melhora a taxa de utilização da fonte de carbono; tem produção de baixo custo; e é adequado para a preparação à escala industrial	2012
CN102816708-A	C12N C12P C12R	LIU X, TANG Y, LIU T [40]	New strain of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> WHH6 useful for the preparation of 2-phenylethanol	A invenção descreve o uso de cepas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> WHH6 na obtenção do 2-feniletanol (reivindicada).	2013
JP2014204715-A	A23L	Wakabay Ashi N, Tanaka H, Hishiya N, Nishitani Y [74]	Manufacture of seasonings containing a flavoring substance for food beverages involves the cultivation of yeast, which has the ability to produce a flavor substance in culture medium containing sources of organic nitrogen and amino acids	A invenção descreve a produção de um tempero com sabor produzido por cultura de levedura, contendo fontes de azoto orgânico escolhido a partir de extrato de levedura e de soja. A substância aromatizante é escolhida a partir de methionol e 2-feniletanol.	2014
KR2014026778-A KR1419591-B1	C12N C12P	Hahn JS, Kim BS [48]	New yeast aldehyde dehydrogenase gene ALD3, useful in the production of 2-phenylethanol used in cosmetics	A invenção descreve a descoberta de um novo gene da aldeído desidrogenase de levedura ALD3, e sua utilidade na produção de 2-feniletanol (reivindicado), Aumentando a eficiência e reduzindo o custo na produção de 2-feniletanol.	2014

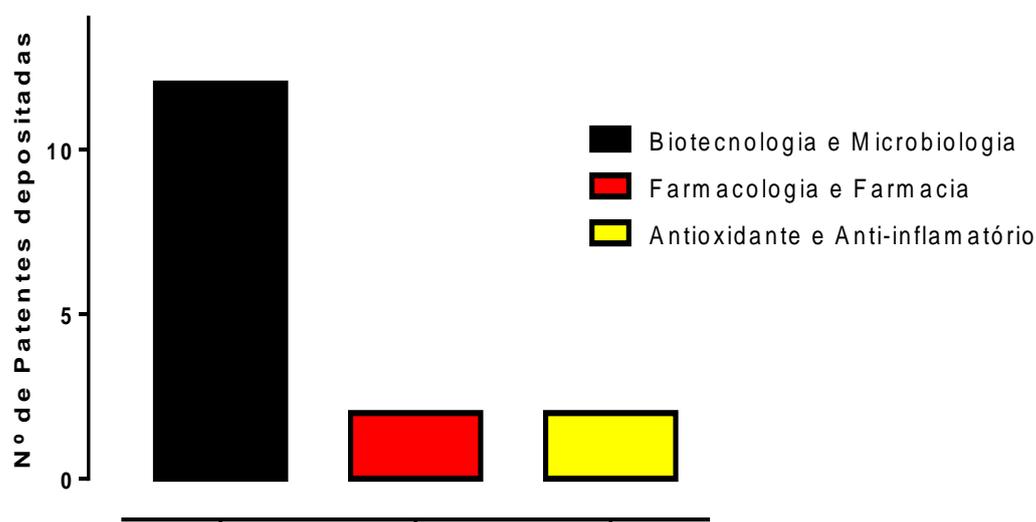
Número da patente	CIP	Inventor ou depositário	Título	Inovação	Ano
KR2014079199-A KR1497434-B1	C12G C12N	Shim MB, Jeon YW, Ahn JH, Lee JH [63]	New strains of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JY230, useful for the production of 2-phenylethanol and 2-phenethylacetate	A invenção descreve o uso de novas cepas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JY230 na produção de 2-feniletanol e 2-fenetilacetato; e para a preparação de bebidas alcoólicas, incluindo o vinho medicinal, licor e, vinho de fruta proporcionando bebida alcoólica com excelentes características de aroma.	2014
WO2014169106-A1	C12N	Costa MA, Lewis NG, Davin LB [50]	A modified plant that encodes an enzyme associated with the biosynthesis of compounds such as aroma/Finnish/specialty, used in the composition for example of allyl phenol, propenylphenol and 2-phenylethanol.	A invenção descreve modificação de uma espécie de planta, que possui pelo menos um polinucleótido exógeno, para a codificação de pelo menos uma enzima associada com a biossíntese de 2-feniletanol, utilizado para caracterização de aroma/sabor.	2014
PL408170-A1	C12N C12P C12R	Mierzejewsk a J Mularska A [17]	New strains of yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> - AM1 deposited in the Culture Collection at the International Institute of Biotechnology of Industrial Microorganisms agro- number - KKP2055p for use in the production of 2-phenylethanol	A invenção descreve uma nova cepa de levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> AM1-D e a sua utilização na produção de 2-feniletanol pela biotransformação de L-fenilalanina.	2015

**Tabela 2.4 - Patentes relacionadas às aplicações tecnológicas do uso do 2-Feniletanol usadas em Farmacologia e Farmácia**

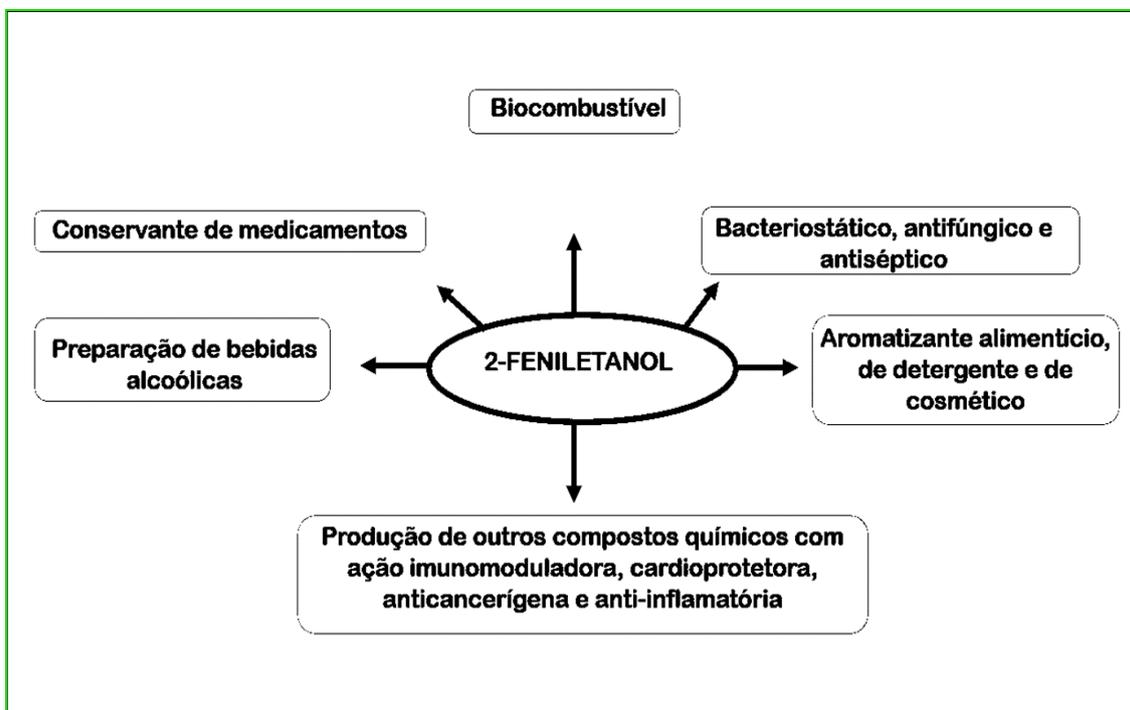
Núm da patente	CIP	Inventor ou depositário	Título	Inovação	Ano
US2005131258A1 US6979753-B2 IN232572-B WO2005063662-A1 AU2003300713-A1 IN200400399-P1	C07C	Rode CV, Kshirsagar VS, Rane VH, Chaudharl RV, Vasant RC, Vikas SK, Vilas HR [30]	Preparation of 2-phenylethanol useful in, for example, antiseptic creams and deodorants involves hydrogenation of catalytic transfer of styrene oxide in the presence of heterogeneous transition metal catalyst and hydrogen donor.	A invenção descreve a preparação de 2-feniletanol útil como substância química em fragrância de perfumes e desodorizantes, como bacteriostático e agente antifúngico, em formulações cosméticas e no fabrico de produtos químicos tais como estireno, acetato de fenil éster, ácido fenil acético, fenilacetaldéido, o ácido benzóico, e éter bis-fenilo.	2005
US2008096850-A1	A61K A61P	Syverson RE, Proctor RA [01]	Inhibition of toxin production in toxic shock syndrome from a Gram positive bacterium located around the woman's vagina upon exposure to a formulation comprising carrier and active ingredient e.g. hexachlorophene and acetaminophen	A invenção descreve a inibição da produção da toxina 1 (TSST-1) pela síndrome de choque tóxico a partir de bactérias Gram-positivas. É realizada a exposição das bactérias Gram-positivas a uma formulação vaginal líquida contendo, por exemplo, 2-feniletanol, álcool benzílico, ácido trans-cinâmico ou acetaminofeno.	2008
CN104498539-A	C12P C12R	Cai B, Guan S, Li Q, Rong S, Tian X [65]	Preparation of 2-Phenylethanol comprises the addition of activated beer yeast in the biological conversion medium, using L-phenylalanine as substrate, glucose as carbon source, addition of antioxidant, leading to fermentation	A invenção descreve a preparação de 2-feniletanol a partir de ativado de levedura de cerveja em um meio de cultura de conversão biológica, tendo a L-fenilalanina, glicose, antioxidante para se obter 2-Feniletanol. O método aumenta a taxa de produção e encurta o período de conversão biológica.	2015

Núm da patente	CIP	Inventor ou depositário	Título	Inovação	Ano
RU2558329-C1	C07C C07C	Chernysheva GA, Kryukov YUA, Malykhin VV, Muradov KK, Plotnikov MB, Sysolyatin SV [59]	A method of producing 2- (4- hydroxyphenyl) ethanol (n-tyzole)	A invenção descreve o método de produção de álcool possuindo um efeito estimulante, imunomodulador, cardioprotetor, anti-cancerígeno e anti-inflamatório. A realização do método inclui a nitração de 2-feniletanol, com hidrólise subsequente do composto diazo.	2015

**Figura 2.8** - Número de patentes encontradas com o termo 2-Feniletanol nos campos Biotecnologia e aplicação em Microbiologia, Farmacologia e Farmácia e Antioxidante e Anti-inflamatório

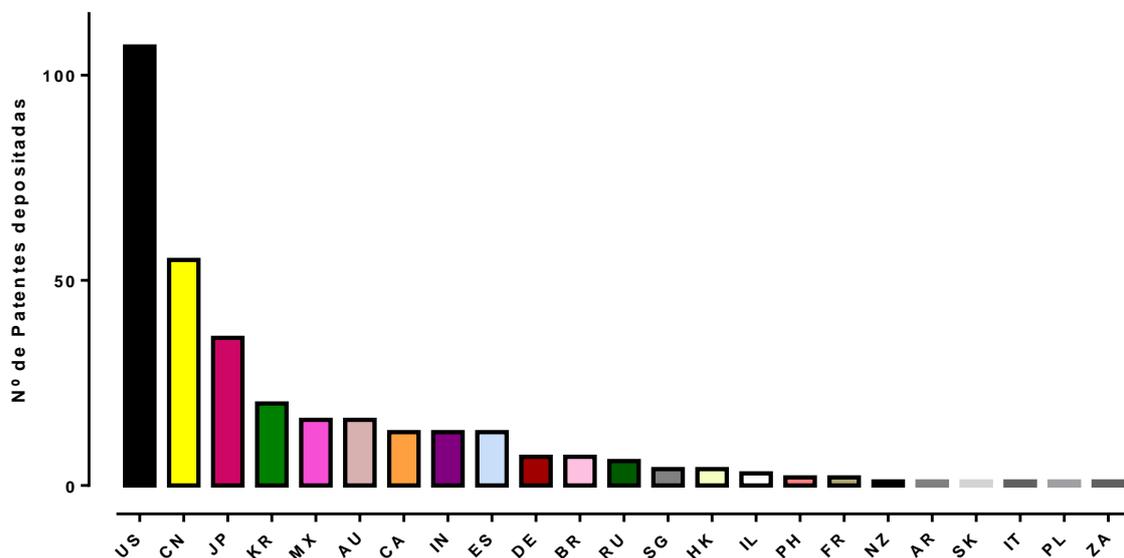


As patentes selecionadas na Figura 2.8, mostraram que o 2-FE possui uma importância relevante nas áreas de biotecnologia e microbiologia, sendo seu uso muito expresso na indústria cosmética, alimentícia e química. Mas o 2-FE etanol também possui uma discreta utilização em áreas de farmacologia e farmácia, tendo destaque como conservante de medicamentos e uma ação, mesmo que em poucos estudos, antioxidante bem evidenciada e ação anti-inflamatória pela associação e aumento de eficácia em composições farmacêuticas. A Figura 2.9 sumariza as mais diversas aplicações do 2-FE.

**Figura 2.9 - Aplicações do 2-Feniletanol**

Dentre os países com maior número de depósitos de patentes sobre o 2-Feniletanol, merece destaque os Estados Unidos, China e Japão, Coreia do Sul, México, Austrália, Canadá, Índia, Espanha, Alemanha, Brasil, Federação Russa, Singapura, Hong Kong, Israel, Filipinas, França, Nova Zelândia, Argentina, Eslováquia, Itália, Polônia e África do Sul (Figura 2.10).

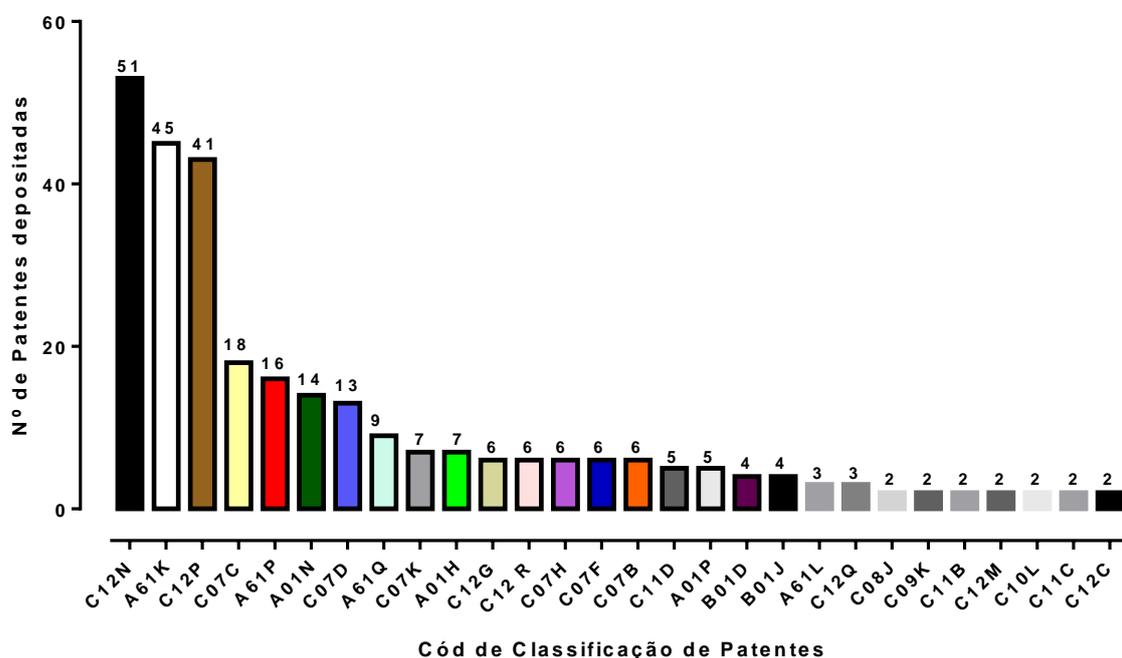
**Figura 2.10** - Distribuição de pedidos de depósitos de patentes sobre o 2-Feniletanol



No que diz respeito à Classificação Internacional de Patentes (CIP) nos pedidos de depósitos encontrados, as principais aplicações do 2-FE tem destaque nos códigos C12N, A61K e C12P (Figura 2.11). A classificação C12N obteve o maior número de patentes, e refere-se à utilização de micro-organismos ou enzimas, suas composições, propagação, conservação ou manutenção de micro-organismos como também o uso de engenharia genética ou de mutações, utilizações de meios de cultura para a obtenção de compostos químicos.

Sugiyama e Kumagai (2011) destacam o uso de bactérias produtoras de ácido láctico capaz de gerar 2-FE utilizado na composição para proporcionar aumento de fragrância ao produto alimentar, através da introdução de mutações em bactérias. Outra invenção destaca o uso de um micro-organismo fotoautotrófico recombinante que produz um álcool selecionado (2-FE) a partir de dióxido de carbono, utilizado na produção de biocombustíveis (LIAO; ATSUMI, 2001).

**Figura 2.11** - Distribuição do número de pedidos de depósitos de patentes do 2-Feniletanol de acordo com os códigos de classificação internacional



Em segundo lugar, está o código de classificação A61K que se refere a reparações para finalidades médicas, odontológicas ou higiênicas, dentre eles métodos especialmente adaptados para dar aos produtos farmacêuticos formas físicas determinadas ou aspectos químicos. O 2-FE tem destaque como conservante para estabilização a longo prazo de medicamentos utilizados no tratamento de doença do trato gastrointestinal de animais (WANG et al., 2009).

Um terceiro lugar é ocupado pelo código de classificação internacional C12P, que trata do uso do 2-Feniletanol em processos de fermentação ou processos que utilizem enzimas para sintetizar uma composição ou composto químico desejado ou para separar isômeros ópticos de uma mistura racêmica. Hahn e kim (2014), propõem o uso do gene da aldeído desidrogenase (ALD3) na produção de 2-feniletanol, útil em produtos cosméticos.

Merecem destaque também, os demais códigos de classificação internacional, demonstrando a ampla aplicação do 2-FE. Jia e colaboradores (2009) mostram que a remoção de substâncias, como o 2-FE, atuam como inibidores da fermentação, permite processos de fermentação mais eficazes e eficientes, e produção de etanol com custo menor.

## 4 CONCLUSÕES PARCIAIS

---

A revisão literária proporcionou uma visão geral do número de publicações envolvendo o 2-FE, mostrando sua utilização como substância utilizada na indústria de cosméticos e alimentos, aplicação em larga escala na indústria, como biocombustível e também apresentar atividades antioxidantes e anti-inflamatório como componente ativo e de conservação de medicamentos. Porém, estudos precisam ser realizados em relação a sua utilização nos campos da indústria farmacêutica e aplicação de suas atividades biológicas e farmacológicas no estudo de doenças.

Tendo em vista que a inovação é um fator chave para a indústria, a prospecção tecnológica mostrou que os depósitos patentários referentes ao 2-FE são bem menores que o número de artigos científicos publicados. Isso reflete no interesse de divulgação de dados na comunidade científica serem mais relevantes nos grupos de pesquisas do que sua utilização como um componente tecnológico em potencial.

## REFERÊNCIAS

---

ATSUMI, S.; HANAI, T.; LIAO, J. C. Non-fermentative pathways for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels. **Nature**, v. 451, p. 86-89, 2008.

BIDAN, P. Relation entre la teneur des vins en alcools supérieurs et la teneur des moûts en substances azotées en particulier en acides aminés. **Bulletin de L'OIV**, v. 36, p. 842-867, 1975.

CUI, Z. F.; CHE, Z. B.; YANG, X.; SHEN, Q. J. Screening of the *Saccharomyces cerevisiae* strain for resistance and higher production of 2-phenylethanol. **Journal Zhejiang University Science Bulletin**, v. 36, p. 31-34, 2008.

DICKINSON, J. R.; SALGADO, L. E.; HEWLINS, M. J. The catabolism of amino acids to long chain and complex alcohols in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, p. 8028–8034, 2003.

ETSCHMANN, M. M.; BLUEMKE, W.; SELL, D.; SCHRADER, J. Biotechnological production of 2-phenylethanol. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, p. 1-8, 2002.

FARAG, M. A.; AL-MAHDY, D. A. Comparative study of the chemical composition and biological activities of *Magnolia grandiflora* and *Magnolia virginiana* flower essential oils. **Natural products resources**, v. 27, n. 12, p. 1091-1097, 2013.

GOFF, F. A.; KLEE, H. J. Plant volatile compounds: sensory cues for health and nutritional value. **Science**, v. 311, p. 815-819, 2006.

HAHN, J. S.; KIM, B. S. New yeast aldehyde dehydrogenase gene ALD3, useful in the production of 2-phenylethanol used in cosmetics. **KR2014026778-A**. 2014.

HAVKIN-FRENKEL, D.; BELANGER, F. C. Biotechnological production of Vanillin, Blackwell Publishing Ltd. **Biotechnology in Flavor Production**, v.83, p. 103, 2008.

HAZELWOOD, L. A.; DARAN, J.; MARIS, A. J. A. V.; PRONK, J. T.; DICKINSON, J. R. The Ehrlich Pathway for Fusel Alcohol Production: a Century of Research on *Saccharomyces cerevisiae*. **Metabolism Application environmental microbiology**, v. 74, n.8, p. 2259-2266, 2008.

HUA D.L.; LIN S.; LI Y.F.; ZHANG Z.B.; DU Y.; CHEN H.; ZHANG, Z.; DU Y.; ZHANG X.; XU, P. Enhanced 2-phenylethanol production from L-phenylalanine via in situ product adsorption. **Biocatalysis and Biotransformation**, London, v. 28, p. 259–66, 2010.

JONES, M.; PIERCE, J. Absorption of amino acids from wort by yeasts. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 70 p. 307-315, 1964.

KIM B.; CHO, B. R.; HAHN, J. S. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for the production of 2-phenylethanol via Ehrlich pathway. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 111, n. 1, 2014.

LOMASCOLO, A. et al. Overproduction of laccase by a monokaryotic strain of *Pycnoporus cinnabarinus* using ethanol as inducer. **Journal of Applied Microbiology**, v. 94, p. 618-624, 2003.

LOMASCOLO, A.; STENTELAIRE, C.; ASTHER, M.; LESAGEMEESSEN, L. Basidiomycetes as new biotechnological tools to generate natural aromatic flavours for the food industry. **Trends in Biotechnology**, v. 17, p. 282-289, 1999.

MEI, J.; MIN, H.; LÜ, Z. Enhanced biotransformation of L-phenylalanine to 2-phenylethanol using an in situ product adsorption technique. **Process Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 886–890, 2009.

STARK, A.; BRENNECKE, J.; RUSSELL, R.B.; COHEN, S.M. Identification of *Drosophila* microRNA targets. **PLoS biology**, v. 1, p. 1–13, 2003.

XU, Y.; FAN, W.; QIAN, M. C. Characterization of aroma compounds in apple cider using solvent-assisted flavor evaporations and headspace solid-phase microextraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 3051-3057, 2007.

WONDRA, M.; BEROVIC, M. Analyses of aroma components of Chardonnay wine fermented by different yeast strains. **Food Technology Biotechnology**, v. 39 (2), p. 141-148, 2001.

ZHANG, L.; XU, Q.; ZHAN, S.; LI, Y.; LIN, H.; SUN, S. SHA, L.; HU, K.; GUAN, X.; SHEN, Y. A new NAD(H)-dependent meso-2,3-butanediol dehydrogenase from an industrially potential strain *Serratia marcescens* H30. v. 98, (3), p. 1175–1184, 2014.

**PARTES SUPRIMIDAS**

**PÁGINAS 106 a 163**

## 4 DISCUSSÃO

---

O desenvolvimento da dor neuropática, após uma injúria do nervo, se dá com o aumento do nível de várias citocinas tais como fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina-1beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina -6 (IL-6), juntamente com o óxido nítrico (NO) a partir das células gliais, macrófagos dentre outros (CLARK; OLD; MALCANGIO, 2013).

Vários estudos demonstram um papel importante dos canais de sódio operados por voltagem (NaV) nas vias de dor. NaV1.1 está envolvido com a dor mecânica e não-térmica, enquanto NaV 1.6 está envolvido com dor térmica e vias de dor múltiplas, e além do envolvimento de NaV por vias de dor aguda, eles também possuem papel fundamental nas vias de dor crônica (DEUIS et al., 2013; OSTEEEN et al., 2016; CARDOSO; LEWIS, 2017).

A dor neuropática causa um aumento na expressão de canais de sódio, aumentando a corrente dos mesmos, levando a descargas espontâneas das fibras A $\delta$  e C (HONG, et al., 2004; HONG; WILEY, 2005). A sensibilização periférica também está associada ao aumento dos canais de cálcio tipo T, que são regulados positivamente nos gânglios da raiz dorsal quando submetidos a lesão do nervo e ativados por CA<sup>2+</sup> intracelular, elevando a substância P (SP), e liberação de glutamato exacerbando a transmissão de dor (LUO et al., 2001; MATTHEWS; DICKENSON, 2001; JAGODIC et al., 2008; WEN et al., 2010; YUE et al., 2013).

Durante o teste agudo de von frey, o 2-FE não apresentou efeito, porém as avaliações feitas com o 2-FECD apresentaram um efeito discretamente evidenciado na média de resposta de 46,6% na maior dose testada. Este efeito pode ser devido a uma diminuição da sensibilização da via nociceptiva através de uma possível atividade anti-inflamatória pela redução dessas citocinas pro-inflamatórias, bem como na diminuição da liberação de cálcio e sódio levando a uma queda na liberação de substância P e glutamato e diminuição nas descargas espontâneas das fibras A $\delta$  e C.

Outro teste intimamente ligado a neuropatia é o da temperatura. Os canais TRP são considerados importantes mediadores do sistema somatossensorial, incluindo sinalização de dor. Canais iônicos da família TRP atuam como termodetectores moleculares, proporcionando o início da sinalização para o SNC (JORDT; MCKEMY; JULIUS D, 2003; BELMONTE; BROCK; VIANA, 2009).

TRPM8 é um canal de cátion expresso em células ganglionares da raiz do nervo trigêmeo e raiz dorsal, que responde a temperatura de resfriamento. TRPM8 possui papel crítico na hipersensibilidade ao frio na dor neuropática ocasionada por constrição do nervo ciático e fortemente agravada pela ativação de TRPM8 no gânglio da raiz dorsal. Existem várias hipóteses para o mecanismo de alodinia e hiperalgesia a frio. Estes incluem sensibilização central e periférica, ou desinibição central pela sensibilização de nociceptores C ou fibras A $\delta$  (SU et al., 2011; JENSEN; FINNERUP, 2014; BASSO; ALTIER, 2017).

No teste de alodinia a frio, provocado pela acetona, os grupos tratados com 2-FE apresentaram efeitos significativos pelo aumento dos escores dos parâmetros avaliados. Porém, quando comparados ao grupo 2-FECD as doses testadas também apresentaram eficácia na média de resposta de 31,8% na menor dose, 11,4% na dose intermediária e 12,7% na maior dose. Pode-se deduzir que a complexação do 2-FE proporcionou ao composto uma maior biodisponibilidade e com isso evidenciando o efeito anti-alodínico a frio diminuindo a sensibilização do neurônio. Os testes com alodinia a frio demonstrou que o 2-FE tem uma preferência evidenciada pelos receptores do tipo TRPM8, diminuindo possivelmente essa sensibilização central e periférica, observada em nociceptores C ou fibras A $\delta$ .

A morfina, utilizada aqui como analgésico de referência, tem seus efeitos associados principalmente aos receptores opióides  $\mu$ , que possui ação analgésica. Porém, a sua maior afinidade é com o subtipo  $\mu_1$ , que medeiam a analgesia, além de ligar-se a receptores  $\kappa$ , que medeiam a analgesia periférica e aos receptores  $\delta$  envolvidos na analgesia supraespinhal e espinhal (PFEIFFER et al., 1986; STEIN et al., 1991; KRISTENSEN; CHRISTENSEN;

CHRISTRUP, 1995; ZHANG et al., 1998; GUTSTEIN; AKIL, 2005; WANG et al., 2010).

Tendo em vista o dano estrutural do nervo, um fator bem estabelecido nos eventos neuropático é a ativação direta de receptores além de uma mediação inflamatória proporcionando a redução do limiar nociceptivo, levando ao desenvolvimento da hiperalgesia. A neuroplasticidade periférica ocorre a partir da liberação de mediadores inflamatórios (citocinas, prostaglandinas, bradicinina, histamina, serotonina, íons  $H^+$ ) por tecidos danificados ou células inflamatórias, com ativação de cascatas intracelulares que culminam na redução do limiar excitatório e podem causar percepção da dor com estímulo não nocivos (alodinia) ou aumento da resposta ao estímulo agressivo (hiperalgesia) (KEHLET; JENSEN; WOOLF, 2006).

Muitos dos mediadores atuam diretamente nos terminais nociceptivos que inervam os tecidos inflamados. Estes neurônios expressam receptores para  $TNF\alpha$ ,  $IL-1\beta$ , NGF,  $IL-6$ , histamina, bradicinina e prostanóides. É sabido que durante os eventos neuropáticos, a sensibilidade ao frio fica mais evidenciada. TRPM8 tem sua ativação ao toque aumentada em eventos neuropáticos. Camundongos knockout para TRPM8 apresentaram diminuição da sensibilidade a frio, levando a confirmação que esses canais iônicos TRP possuem um papel importantíssimo nos eventos de dor crônica (FACER, 2007; KNOWLTON et al., 2011; MCMAHON; BENNETT; BEVAN, 2016).

O tratamento crônico com o 2-FE não apresentou efeitos no teste de alodinia mecânica pelos filamentos de von frey, porém nos teste de alodinia térmica, o 2-FE apresentou efeito anti-alodínico significativo frente aos escores testados, porém o 2-FECD apresentou eficácia na média de resposta de 77,5% na menor dose, 41,1% em sua dose intermediária e 67,8% na maior dose testada. Pode ser observado também que durante o tratamento de oito dias antes da cirurgia de constrição do nervo ciático, os parâmetros avaliados de alodinia mecânica e térmica não apresentaram qualquer alteração. Isso mostra que 2-FE e 2-FECD não possui efeito cumulativo de resposta, devido não ter apresentado nenhum efeito protetor antes da cirurgia.

A avaliação neuropática 24h e 4º dia após a cirurgia, com a instalação da neuropatia demonstrou que o efeito do 2-FE e 2-FECD é bem evidente após

a neuropatia instalada e que o composto complexado, teve seus efeitos mais proeminentes devido a uma liberação controlada e estabilidade da molécula e com uma menor dose utilizada reverteu a alodinia mecânica e térmica. Na avaliação após 24h de cirurgia, a eficácia de 2-FECD em relação a 2-FE apresentou na alodinia mecânica, médias de resposta anti-alodínica de 97,9% na menor dose, 128% na dose intermediária e 135% na maior dose.

No teste de alodinia térmica, a eficácia de média de resposta anti-alodínica do 2-FECD em relação ao 2-FE foi de 44% para a menor dose avaliada, 78% para a dose intermediária e 64% na maior dose. Já nos testes após o 4º dia de neuropatia instalada, a eficácia apresentada nos testes de alodinia mecânica de 2-FECD em relação a 2-FE nas médias de resposta anti-alodínica foram de 117,9% na menor dose, 5,6% para a dose intermediária e 27,3% na maior dose testada.

Para os testes de alodinia térmica, as médias de resposta anti-alodínica para 2-FECD em relação a 2-FE foram de 62,6% na menor dose, 164,3% para a dose intermediária e 56,5% para a maior dose. O que pode-se aferir aos resultados do 2-FE e 2-FECD nestes teste de alodinia mecânica e a frio é que tanto 2-FE quanto 2-FECD, dependendo da instalação da neuropatia, possuem uma afinidade para receptores encontrados na fibra A $\delta$ , porém uma afinidade maior para os receptores encontrados nos neurônios sensoriais de diâmetro médio e pequeno dentro dos gânglios trigeminais de raiz dorsal.

Além dos eventos neuropáticos terem envolvidos vários mediadores inflamatórios nos mecanismos de dor, o estresse oxidativo também é um fator importante envolvido nos eventos neuropáticos. É sabido que as EROs têm participação na sensibilidade central e na geração de dor neuropática (KIM et al., 2004; PARK et al., 2006; GUEDES et al., 2008).

Após a lesão do nervo periférico, grandes quantidades de radicais livres liberados tem um efeito grave na lesão neuronal. Devido a isso a inibição do estresse oxidativo torna-se um importante mecanismo na prevenção da degeneração neuronal, devido a ação de substâncias antioxidantes terem a capacidade de retardo e proteção mesmo em doses mínimas inibindo a oxidação de substratos oxidáveis. Nosso organismo possui um sistema de

defesa para a proteção/reparo de danos causados pelas ROS (BARBOSA et al., 2010; BIRBEN et al., 2012).

As mitocôndrias têm papéis fundamentais em uma variedade de funções celulares, incluindo o metabolismo energético, a homeostase do cálcio, a síntese lipídica e a apoptose. Dessa forma, a respiração celular pode ser elevada em condições de dor neuropática, com elevação de ROS derivada de mitocôndrias neuronais e microgliais. Com isso, as substâncias com ação antioxidante e portanto, eliminadoras de ROs, podem reduzir a hiperalgesia e alodinia, provocadas pela ligadura parcial do nervo ciático em camundongos (SCHWARTZ et al., 2008; MAO et al., 2009; SCHWARTZ et al. 2009; KIM et al., 2012; YOWTAK et al., 2011).

O mecanismo anticonvulsivo e antinociceptivo da pregabalina é devido à inibição da subunidade  $\alpha 2\delta$  de canais de cálcio dependentes da tensão e, conseqüentemente, reduz a liberação de neurotransmissores, incluindo glutamato, noradrenalina e substância P. A alta biodisponibilidade (cerca de 90%) e a baixa interação da pregabalina com outros fármacos tornam-na um candidato com importância relevante em combinação com a terapia da dor neuropática (AJRAJ, 2007; GAJRAJ, 2007; TAYLOR; ANGELOTT; FAUMAN, 2007).

Testes com microrganismos são fáceis, rápidos e podem ser usados um grande número de células com as mesmas características genéticas (SOARES; ANDREAZZA; SALVADOR, 2005). As células leveduriformes de *S. cerevisiae* são caracterizadas como um dos melhores modelos unicelulares do sistema eucariótico no estudo do estresse oxidativo. Seu metabolismo é semelhante ao dos eucarióticos superiores com um mecanismo de ativação metabólica próprio. Dessa forma, ensaios com essas células permitem uma avaliação antioxidante com vários compostos de forma rápida, econômica e reprodutível (HENRIQUES et al., 2001; GUARIENTI et al., 2010).

As células apresentam certa tolerância aos danos oxidativos provocados pelos radicais livres, devido ao sistema de defesa antioxidante presente promovendo um equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes. O mecanismo oxidante possuem duas vias, a não-enzimática que envolvem as ações de sequestro de radicais livres impedindo a oxidação de proteínas,

lipídios e do DNA. Estas são produzidas pelas células, por exemplo, a GSH, coenzima Q (presente na cadeia de transporte de elétrons) e tioredoxinas. (HALLIWELL, 1997).

A via enzimática, por sua vez, é composta pela superóxido dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GPx) dentre outros que agem catalizando a redução de radicais livres pela transferência de elétrons (TOLEDANO et al, 2003.). A SOD age convertendo o anion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) em  $H_2O_2$  e oxigênio, por um processo de dismutação catalisada por metais de transição como o cobre e manganês. As isoformas de SOD encontradas em *S. cerevisiae*, uma Cu, Zn-SOD (SOD1), localizada no citosol, espaço intermembranoso e nos demais compartimentos celulares e a outra Mn-SOD (Sod2) encontrada na matriz mitocondrial, possuem papel importante na dismutação do  $O_2^{\bullet-}$  (TOLEDANO et al., 2007).

A perda de SOD1 (SOD1 $\Delta$ ) leva a consequências mais dramáticas do que a perda de SOD2 (SOD2 $\Delta$ ). Em condição de crescimento aeróbio, *S. cerevisiae* deficiente de SOD1 $\Delta$  possui crescimento celular comprometido, perda de capacidade de sintetizar aminoácidos importantes como lisina e metionina, baixo crescimento em substratos respiratórios como glicerol e etanol, alta taxa de mutação, e rápida perda de viabilidade em fase estacionária. *S. cerevisiae* deficiente de SOD2 $\Delta$  também apresenta baixa taxa de crescimento em substratos respiratórios. A dupla mutação intensifica a deficiência de ambos os fenótipos (SOD $\Delta$ SOD2 $\Delta$ ), comprometendo a dismutação do  $O_2^{\bullet-}$  de forma mais severa (LONGO et al., 1996; CORSON et al., 1999; DE FREITAS et al., 2000; SRINIVASAN et al., 2000; SEHATI et al., 2011).

O pré, pós e co-tratamento com 2-FE e 2-FECD respectivamente apresentaram excelentes atividades antioxidantes de linhagens *S. cerevisiae* proficientes e deficientes de SOD1 $\Delta$ , SOD2 $\Delta$  e SOD1 $\Delta$ SOD2 $\Delta$ , em defesas antioxidantes após tratamento com o  $H_2O_2$ . Pode-se inferir dessa forma que o 2-FE e 2-FECD agem na inibição do poder oxidativo do  $H_2O_2$  devido a sua capacidade antioxidante tanto no citosol como na matriz mitocondrial.

A catalase, é uma enzima, composta de heme proteína-Fe(III) que decompõe o  $H_2O_2$  em água e  $O_2$  (HALLIWELL, 2007). As *S. cerevisiae*

possuem dois tipos de catalases, a citosólica expressa pelo gene *Ctt1* e a peroxissomal, expressa pelo gene *Cat1*. Quando ocorre a mutação de uma dessas catalases ou das duas, o crescimento exponencial não é alterado diante mão. Porém na fase estacionária, as linhagens contendo mutações na catalase citosólica, denominada de *Ctt1* $\Delta$ , ou na catalase peroxissomal, denominada de *Cat1* $\Delta$ , levam a uma sensibilidade aumentada ao  $H_2O_2$  quando comparado ao tipo selvagem (TOLEDANO et al., 2003; HERRERO et al., 2008).

As linhagens mutadas em *Ctt1* $\Delta$  e tratadas com o 2-FE e 2-FECD apresentaram um queda na taxa de inibição de crescimento pelo  $H_2O_2$ , mostrando que também que possui ação modulatória na resposta de inibição do processo oxidativo do  $H_2O_2$ . A importância dessa levedura para o estudo de doenças humanas está bem estabelecida pelo seu genoma conservado e por sua biologia celular. 60% dos genes de leveduras possuem homólogos humanos, e mais de 25% desses genes relacionados a doenças humanas possuem homólogos próximos na levedura (KHURANA; LINDQUIST, 2010; KACHROO et al., 2015).

Da mesma forma que as células de mamíferos, as células produtoras de EROS nas *S. cerevisiae* são as mitocôndrias. As análises de defeitos mitocondriais seriam letais em células de mamíferos, como por exemplo em knock-out em *SOD2*, porém, em *S. cerevisiae*, a capacidade fermentativa dependendo da fonte de carbono permite essa análise em células com esses defeitos mitocondriais (KHURANA; LINDQUIST, 2010).

Tem sido proposto que a *Cat1* possui a função fisiológica de remoção de  $H_2O_2$  formado durante a  $\beta$ -oxidação de lipídios (ANU et al., 2003). A deficiência das *S. cerevisiae* para *sod1* $\Delta$ *Cat1* $\Delta$ , levam a uma maior disponibilidade de  $H_2O_2$  por falta de catalase para detoxificá-lo, como também a presença de  $O_2^-$ , pela falta da superóxido dismutase. O  $O_2 \cdot^-$  pode reagir com  $H_2O_2$  como indutor de estresse oxidativo, gerando  $OH\cdot$ , que é um radical altamente prejudicial aos organismos vivos (SHARMA et al., 2012).

As linhagens tratadas com 2-FE e 2-FECD tiveram inibição do crescimento evidentes, podendo estar agindo de forma não enzimáticas, como as vitaminas e os polifenóis, como também quelando ROS, por interação direta,

substituindo algumas defesas ou mesmo reforçando-as, por ação direta na expressão dessas enzimas em nível molecular. O 2-FE e 2-FECD apresentaram excelentes atividades protetoras, antioxidantes e reparadoras de instabilidade genética frente aos danos provocados pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em linhagens proficientes e deficientes de defesas enzimáticas antioxidantes.

Levando em consideração que o material genético de *S. cerevisiae* tem um genoma semelhante aos de mamíferos, se torna interessante a análise da atividade antioxidante em animais com neuropatia, já que é sabido que a atividade inflamatória está intimamente ligada aos eventos oxidantes nas células. Nas células selvagens, o 2-FE e 2-FECD apresentou um poder antioxidante evidente, porém avaliando as células mutadas para a ausência das enzimas da maquinaria antioxidante, seu efeito também mostrou significância, levando a indicação que tanto composto livre quanto complexado agem como potentes varredores de ROS, já que sua ação foi evidenciada na ausência dessas enzimas.

Um fator importante também é que a complexação apresentou vantagens quando comparadas ao 2-FE devido a sua massa no complexo ser significativamente menor, assim levando a crer que a biodisponibilidade, e controle da liberação do composto proporcionaram maior controle e efeitos promissores.

O acúmulo de evidências mostram que a redução de ROS através de administração de compostos antioxidantes atenuam a nocicepção em vários modelos de dor neuropática (PARK et al., 2013; KIABI et al., 2013; KIM et al. 2012). Citocinas inflamatórias (IL1- $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ ) e ROS são mediadores inflamatórios que agem sensibilizando/ativando neurônios nociceptivos primários (SALVEMINI et al., 2011). Durante os eventos inflamatórios, ROS e espécies reativas de nitrogênio (RNS) modulam a fagocitose, expressão gênica, apoptose e o estresse oxidativo promove a ativação de fatores de transcrição redox, como o NF- $\kappa$ B e AP-1, que possuem papel crucial na indução de citocinas inflamatórias moléculas de adesão intercelular-1 (ICAM-1) (CHEN et al., 2004).

Em mamíferos, o dano oxidativo é amenizado pelas linhas de defesas enzimáticas como SOD, CAT e GSH (LUCHESE; PINTON; NOGUEIRA, 2009).

Durante o processo inflamatório, TNF- $\alpha$  e IL- $\beta$  ativam neutrófilos e macrófagos, que por sua vez se acumulam na inflamação e com isso produzem citocinas inflamatórias e ROS (VERRI et al., 2010; AKDIS et al., 2011). TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  podem induzir a produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e anion superóxido, e estes ativarem NF- $\kappa$ B e mais citocinas inflamatórias (BOWIE, 2000). Por fim, as citocinas e o anion superóxido podem ativar diretamente neuronios nociceptivos, induzir dor e contribuir para o aumento do dano tecidual (JIN, 2006; SALVEMINI et al., 2011).

O sistema SOD-CAT fornece a primeira linha de defesa contra toxicidade do oxigênio. SOD cataliza a dismutação do O<sub>2</sub><sup>-</sup> em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que por sua vez é convertido em H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub>. Geralmente, uma resposta de indução simultânea nas atividades de SOD e CAT é observada quando possível agente antioxidante externo é aplicado ao meio (CETINKAYA et al., 2006). Os grupos tratados com 2-FE e 2-FECD apresentaram efeito antioxidante nas dose intermediária e na menor dose respectivamente, após o quarto dia de neuropatia instalada, e continuados por mais oito dias.

Em condições normais, a SOD, juntamente com outros antioxidantes, encontram-se em níveis suficientes na medula espinhal, para manter as ROS em níveis baixos (KABU et al, 2015). Porém, após um trauma neural os níveis de enzimas antioxidantes não se encontram em níveis suficientes para removerem os excessos de ROS produzidos, levando assim a perda de equilíbrio redox e subsequente desenvolvimento de estresse oxidativo nos neurônios e glia no SNC. A atividade da SOD também diminui ao longo do tempo no tecido neural lesionado tanto central como periféricamente (WANG et al., 2011; KAUR et al., 2016).

O uso de antioxidantes enzimáticos é sub-estimado pela necessidade de melhor proteção contra a degradação e manutenção da atividade enzimática. A ação de compostos naturais com ação antioxidante podem amenizar os efeitos deletérios das ROS.

O complexo de inclusão proporcionou ao 2-FE características marcantes como aumento da solubilidade aquosa, já que o 2-FE é pouco solúvel em água, aumentando sua estabilidade e biodisponibilidade. A ciclodextrina, altera a farmacocinética e biodisponibilidade dos princípios ativos,

que apesar de possuírem ação farmacológica, são limitados em relação a estabilidade e efeitos adversos indesejáveis (PEREZ-GARRIDO et al. 2009; RODRIGUES et al., 2011).

As EROS promovem lesões em moléculas como ácidos nucleicos, lipídios e proteínas, alterando a integridade e metabolismo das membranas celulares (SMITH et al., 2009). As membranas biológicas que sofrem peroxidação lipídica tem suas funções como fluidez e seletividade iônica alteradas, causando a liberação de produtos nocivos como o malondialdeído, que por sua vez podem causar alterações nas atividades das enzimas e proteínas ligadas as membranas, oxidando-as e por fim prejudicando suas atividades transportadoras e receptoras (HALLIWELL, 2012).

Neste estudo, o 2-FE e 2-FECD durante as três etapas de tratamento, mostrou elevada ação antioxidante e eliminadora de ROS devido a diminuição nos níveis de TBARs, pela possível proteção contra a peroxidação lipídica. A redução dos níveis de TBARs provavelmente indicam que 2-FE e 2-FECD possam ser novos agentes de proteção do SNC e nervo ciático, contra as ações do estresse oxidativo resultante da lesão do tecido nervoso.

A diminuição da peroxidação lipídica pode ser justificada também pelo aumento da GSH devido esta reduzir hidróperóxidos existente no meio pelo sistema de GPx e GST, o que pode ser confirmado pelo aumento da concentração de GSH nos grupos 2-FE e 2-FECD quando tratados oito dias antes e continuados oito dias após a cirurgia e no grupo tratado após vinte quatro horas da cirurgia e continuado por oito dias consecutivos.

O grupo tratado a partir do quarto dia de neuropatia instalada, apresentou efeito apenas na menor dose quando tratados pelo 2-FE e nas doses menor e intermediária quando tratados com 2-FECD. A utilização da ciclodextrina como facilitador na liberação é um ponto positivo para melhor ação do 2-FE, porém como citado anteriormente, os efeitos deletérios das EROs podem sobrepujar a ação antioxidante, mesmo sendo por via não enzimática.

A GSH pode eliminar os radicais livres, reduzir os peróxidos e conjugar-se com componentes eletrofílicos através de reações enzimáticas e não enzimáticas. A ação antioxidante pode promover interação de forma segura

com EROs e controlar as cascatas deletérias. Um fator importante é que existe vários tipos de antioxidantes endógenos e exógenos como compostos fitoquímicos, vitaminas e enzimas (GUEDES et al., 2009; RAHMAN, 2007).

## 5 CONCLUSÕES PARCIAIS

---

No teste agudo, o 2-FE não apresentou aumento no limiar de retirada da pata (g) na LPNC no teste de Von Frey (hipersensibilidade mecânica), porém o 2-FECD apresentou efeito antialodínico mecânico.

Por outro lado, no teste de alodinia térmica (acetona), 2-FE e 2-FECD reduziram os escores avaliados nos animais com LPNC.

No testecrônico, o 2-FECD aumentou o limiar nociceptivo dos animais com neuropatia por LPNC e na sensibilidade ao frio por acetona diminuiu os escores avaliados, mostrando ser vantajoso a complexação do 2-FE.

O complexo de inclusão mostrou resultados bastante promissores devido ao efeito ser ligado a uma dose mais baixa.

O 2-FE e 2-FECD promoveram atividade antioxidante em células leveduriformes normais e mutadas, levando a crer que as substâncias atuaram diretamente sobre as ROS.

Por outro lado, 2-FE e 2-FECD aumentaram GSH e reduziram TBARS, porém os efeitos apresentados sobre a SOD só revelaram significância após um período maior de evento neuropático.

## REFERÊNCIAS

---

- AJRAJ, N .M. Pregabalin: its pharmacology and use in pain management. **Anesthesia & Analgesia**, v.105, p. 1805–1815, 2007.
- AKDIS, M.; BURGLER, S.; CRAMERI, R.; EIWEGGER, T.; FUJITA, H.; GOMEZ, E.; KLUNKER, S.; MEYER, N.; O'MAHONY, L.; PALOMARES, O.; RHYNER, C.; OUAKED, N.; SCHAFFARTZIK, A.; VANDE, V. W.; ZELLER, S.; ZIMMERMANN, M.; AKDIS, C. A. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- $\gamma$ : receptors, functions, and roles in diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 127, p. 701–721, 2011.
- AUCHÈRE, F.; SANTOS, R.; PLANAMENTE, S.; LESUISSE, E.; CAMADRO, J. M. Glutathione-dependent redox status of frataxin-deficient cells in a yeast model of Friedreich's ataxia. **Human Molecular Genetics**, v. 17, p. 2790–2802, 2008.
- AYALA, A.; MUNOZ, M. F.; ARGUELLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p. 1-31, 2014.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O. V.; MINIM, P. R.; BRESSAN, J. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista de Nutrição**, v. 23(4), p. 629-643, 2010.
- BARUAH, J. Polyphenolic Compounds: Nature Materials. Chemistry of Phenolic Compounds: State of the Art. **Jubaraj Bikash Baruah**, p.1-7, 2011.
- BASBAUM, A.I.; BAUTISTA, D. M.; SCHERRER, G.; JULIUS, D. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, p. 267–284, 2009.
- BASSO, L.; ALTIER, C. Transient Receptor Potential Channels in neuropathic pain. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 32, p 9–15, 2017.
- BELMONTE, C.; BROCK, J. A.; VIANA, F. Converting cold into pain. **Experimental Brain Research**, v. 196, p. 13–30, 2009.
- BIRBEN, E.; SAHINER, UM.; SACKESEN, C.; ERZURUM, S.; KALAYCI, O. Oxidative stress and antioxidant defense. **The World allergy Organization Journal**, v. 5(1), p. 9-19, 2012.
- BISWAS, S. K.; RAHMAN, I. Environmental toxicity, redox signaling and lung inflammation: the role of glutathione. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 30, p. 60–76, 2009.
- BOWIE, A.; O'NEILL, L. A. Oxidative stress and nuclear factor- $\kappa$ B activation: a reassessment of the evidence in the light of recent discoveries. **Biochemical Pharmacology**, v. 59, p. 13–23, 2000.

BUTLER, M. S. Natural products to drugs: natural product derived compounds in clinical trials. **Natural product reports**, v. 25, p. 475–516, 2008.

CAMPOS, K. K. D.; MANSO, R. G.; GONCALVES, E. G.; SILVA, M. E.; LIMA, W. G.; MENEZES, C. A. S. et al. Temporal analysis of oxidative effects on the pulmonary inflammatory response in mice exposed to cigarette smoke. **Cell Immunology**, v. 284 (1-2), p. 29-36, 2013.

CARDOSO, F. C.; LEWIS, R. J. Sodium channels and pain: from toxins to therapies. **British Journal of Pharmacology**, p. 1-20, 2017.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15–25, 2013.

CETINKAYA, A.; BULBULOGLU, E.; KANTARCEKEN, B.; CIRALIK, H.; BELGE, K. E.; BUYUKBESE, M. A.; GUMUSALAN, Y. Effects of L-carnitine on oxidant/ antioxidant status in acetic acid-induced colitis. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 51, p. 488-494, 2006.

CHEN, C. C.; CHOW, M. P.; HUANG, W. C.; LIN, Y. C.; CHANG, Y. J. Flavonoids inhibit tumor necrosis factor-alpha-induced upregulation of intercellular adhesion molecule-1 [ICAM-1] in respiratory epithelial cells through activator protein-1 and nuclear factor-kappaB: structure-activity relationships. **Molecular Pharmacology**, v. 66, p. 683–693, 2004.

CIOBANU, A.; LANDY, D.; FOURMENTIN, S. Complexation efficiency of cyclodextrins for volatile flavor compounds. **Food Research International**, v. 53(1), 110–114, 2013a.

CIOBANU, A.; MALLARD, I.; LANDY, D.; BRABIE, G.; NISTOR, D.; FOURMENTIN, S. Retention of aroma compounds from *Mentha piperita* essential oil by cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers. **Food Chemistry**, 138(1), 291–297, 2013b.

CLARK, A. K.; OLD, E. A.; MALCANGIO, M. Neuropathic pain and cytokines: current perspectives. **Journal of pain research**, v. 6, p. 803–14, 2013.

CORSON, L.B.; FOLMER, J.; STRAIN, J.J.; CULOTTA, V.C.; LEVELAND, D.W. Oxidative stress and iron are implicated in fragmenting vacuoles of *Saccharomyces cerevisiae* lacking Cu,Zn superoxide dismutase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 274(39), p. 27590-27596, 1999.

DE FREITAS, J.M.; LIBA, A.; MENEHINI, R.; VALENTINE, J.S.; GRALLA, E.B. Yeast lacking Cu-Zn superoxide dismutase show altered iron homeostasis. Role of oxidative stress in iron metabolism. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 275(16), p. 11645-11649, 2000.

DE OLIVEIRA, T. H.; CAMPOS, K. K.; SOARES, N. P.; PENA, K. B.; LIMA, W. G.; BEZERRA, F. S. Influence of sexual dimorphism on pulmonary inflammatory response in adult mice exposed to chloroform. **International Journal of Toxicology**, v. 34, p. 250–257, 2015.

DEUIS J. R.; ZIMMERMANN, K.; ROMANOVSKY, A. A.; POSSANI, L. D.; CABOT, P. J.; LEWIS, R. J.; et al. An animal model of oxaliplatin-induced cold allodynia reveals a crucial role for NaV1.6 in peripheral pain pathways. **Pain**, v. 154, p. 1749–1757, 2013.

DIB-HAJJ, S. D.; CUMMINS, T. R.; BLACK, J. A.; WAXMAN, S. G. Sodium channels in normal and pathological pain. **Annual Reviews Neuroscience**, v. 33, p. 325–347, 2010.

DWORKIN, R. H.; O'CONNOR, A. B.; AUDETTE, J.; BARON, R.; GOURLAY, G. K.; HAANPAA, M. L.; KENT. Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: an overview and literature update. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 85, p. S3–14, 2010.

ELLMAN, G. L. Archives of Biochemistry and Biophysics. v. 82, p. 70, 1959. ETSCHMANN, M. M. W.; SELL, D.; SCHRADER, J. Medium optimization for the production of the aroma compound 2-phenylethanol using a genetic algorithm. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 29, p. 187-193, 2004.

FACER, P.; CASULA, M. A.; SMITH, G. D.; BENHAM, C. D.; CHESSELL, I. P. Differential expression of the capsaicin receptor TRPV1 and related novel receptors TRPV3, TRPV4 and TRPM8 in normal human tissues and changes in traumatic and diabetic neuropathy. **BMC Neurology**, v. 7, p.11-21, 2007.

FINNERUP, N. B.; HAROUTOUNIAN, S.; KAMERMAN, P.; BARON, R.; BENNETT, D. L.; BOUHASSIRA, D.; CRUCCU, G.; FREEMAN, R.; HANSSON, P.; NURMIKKO, T.; RAJA, S. N.; RICE, A. S.; SERRA, J.; SMITH, B. H.; TREEDE, R. D.; JENSEN, T. S. Neuropathic pain: an updated grading system for research and clinical practice. **Pain**, v. 157, p. 1599–1606, 2016.

FLATTERS, S. J.; BENNETT, G. J. Ethosuximide reverses paclitaxel- and vincristine induced painful peripheral neuropathy. **Pain**, v. 109, p.150-161, 2004  
Gajraj, N. M. Pregabalin for pain management. **Pain Practice**, v. 5, p. 95–102, 2005.

GAJRAJ, N. M. Pregabalin: its pharmacology and use in pain management. **Anesthesia & Analgesia**, v. 105, p.1805–1815, 2007.

GIBSON, B. R.; LAWRENCE, S. J.; LECLAIRE, J. P. R.; POWELL, C. D.; SMART, K. A. Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 31, p. 535–569, 2007.

GIERTHMHULEN, J.; BINDER, A.; BARON, R. Mechanism-based treatment in complex regional pain syndromes. **Nature Reviews Neurology**, v.10(9), p. 518–28, 2014.

GRALLA, E. B.; VALENTINE, J. S. Null mutants of *Saccharomyces cerevisiae* Cu, Zn superoxide dismutase: characterization and spontaneous mutation rates. **Journal of Bacteriology**, v.173, p. 5918-5920, 1991.

GREEN, L.C.; WAGNER, D.A.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPER, P.L.; WISHNOK, J.S.; TANNENBAUM, S.R. Analyses of nitrate, nitrite and [15N]nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v.126, p. 131-138, 1982.

GUARIENTI, C.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; Antioxidant capacity of *Spirulina platensis* cells of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* subjected to the stressor paraquat. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 106-111, 2010.

GUEDES R.P.; ARAUJO, A. S.; JANNER, D.; BELLO-KLEIN, A.; RIBEIRO, M.F.; PARTATA, W. A. Increase in reactive oxygen species and activation of Akt signaling pathway in neuropathic pain. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 28, p. 1049–1056, 2008.

GUEDES, R. P.; Bosco, L. D.; , Araújo, A. S. R; Belló-Klein, A.; Ribeiro, M. F. M.; Partata, W. A. Sciatic nerve transection increases glutathione antioxidant system activity and neuronal nitric oxide synthase expression in the spinal cord. **Brain Research Bulletin**, v. 80, p. 422–427, 2009.

GUTSTEIN, H. B.; AKIL, H. Opioid Analgesics. In: Goodman, L.S., Gilman, A., Brunton, L.L., Lazo, J.S., Parker, K.L. (Eds.). **Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics**, p. 547–590, 2005.

HALLIWELL, B. Dietary polyphenols: Good, bad, or indifferent for your health? **Cardiovascular Research**, v. 73, p. 341–347, 2007.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition Reviews* v. 70, p. 257–265, 2012.

HALLIWELL, B.; **Advances in Pharmacology**, v. 38, p. 3, 1997.

HENRIQUES, J. A. P.; DAFREÉ, A. L.; PICADA, J. N.; MARIS, A. F.; SALVADOR, M. Reactive oxygen species and evaluation of antioxidants in biological systems. In: L.A. SERAFINI, N.M. BARROS and J.L. AZEVEDO. **Biotechnology in agriculture and agribusiness**, Guaíba: Agropecuária, p. 227-252, 2001.

HERRERO, E.; ROS, J.; BELLÍ, G.; CABISCOL, E. Redox control and oxidative stress in yeast cells. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1780, p. 1217-1235, 2008.

HONG, S.; MORROW, T. J.; PAULSON, P. E.; ISOM, L. L.; WILEY, J. W. Early painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in

tetrodotoxin-sensitive and-resistant sodium channels in dorsal root ganglion neurons in the rat. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 279(28), p. 29341-29350, 2004.

HONG, S.; WILEY, J. W. Early painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in the expression and function of vanilloid receptor 1. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280(1), p. 618-627, 2005.

IKEDA, T.; ISHIDA, Y.; NAONO, R.; TAKEDA, R.; ABE, H.; NAKAMURA, T.; NISHIMORI, T. Effects of intrathecal administration of newer antidepressants on mechanical allodynia in rat models of neuropathic pain. **Neuroscience Research**, v. 63, p. 42-46, 2009.

JAARSMA, D.; ROGNONI, F.; VAN DUIJN, W.; VERSPAGET, H.W.; HAASDIJK, E.D.; HOLSTEGE, J.C. CuZn superoxide dismutase (SOD1) accumulates in vacuolated mitochondria in transgenic mice expressing amyotrophic lateral sclerosis-linked SOD1 mutations. **Acta Neuropathology**, v. 102, n.4, p. 293-302, 2001.

JAGODIC, M.M.; PATHIRATHNA, S.; JOKSOVIC, P. M.; LEE, W.; NELSON M. T.; NAIK A. K. et al. (2008). Upregulation of the T-type calcium current in small rat sensory neurons after chronic constrictive injury of the sciatic nerve. **Journal of Neurophysiology**, v. 99, p. 3151–3156, 2008.

JAMIESON, D. J. Oxidative stress responses of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Yeast**, v. 14, p. 1511–1527, 1998.

JENSEN, T. S.; FINNERUP, N. B. Allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain: clinical manifestations and mechanisms. **The Lancet Neurology**, v.13, p. 924–35, 2014.

JIN X, GEREAU 4TH R. W. Acute p38-mediated modulation of tetrodotoxin-resistant sodium channels in mouse sensory neurons by tumor necrosis factor- $\alpha$ . **Journal of Neuroscience**, v. 26, p. 246–255, 2006.

JORDT S. E.; MCKEMY, D. D.; JULIUS, D. Lessons from peppers and peppermint: the molecular logic of thermosensation. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 13, p. 487–492, 2003.

KABU S.; GAO, Y.; KWON, B. K.; LABHASETWAR, V. **Journal of Controlled Release**, v. 219, P. 141, 2015.

KACHROO, A. H.; LAURENT, J. M.; YELLMAN, C. M.; MEYER, A. G.; WILKE, C. O.; MARCOTTE, E. M. Systematic humanization of yeast genes reveals conserved functions and genetic modularity. **Science**, v. 348(6237), p. 921–925, 2015.

KAUR, G.; BEDI, O.; SHARMA, N.; SINGH, S.; DESHMUKH, R.; KUMAR, P. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 27, p. 9, 2016.

KEHLET, H.; JENSEN, T. S.; WOOLF, C. J. Persistent postsurgical pain: risk factors and prevention. **Lancet**, v. 367, p. 1618-1625, 2006.

KHURANA V.; LINDQUIST S. Modelling neurodegeneration in *Saccharomyces cerevisiae*: why cook with baker's yeast? **Nature Neuroscience**, v. 11, p. 436-449. 2010.

KIABI, F. H.; SOLEIMANI, A.; HABIBI, M. R.; ZEYDI, A.E. Can Vitamin C be used as an adjuvant for managing postoperative pain? A short literature review. **Korean Journal of Anesthesiology**, v. 26, p. 209–221, 2013.

KIM, H.K.; PARK, S.K.; ZHOU, J.L.; TAGLIALATELA, G.; CHUNG, K.; COGGESHALL, R.E.; CHUNG, J. M. Reactive oxygen species (ROS) play an important role in a rat model of neuropathic pain. **Pain**, v. 111, p.116–124, 2004.

KIM, M. J.; HONG, B. H.; ZHANG, E. J.; KO, Y. K.; LEE, W. H. Antinociceptive effects of intraperitoneal and intrathecal vitamin E in the rat formalin test. **Korean Journal of Anesthesiology**, v. 25, p. 238–244, 2012.

KNOWLTON, W. M; DANIELS, R . L.; PALKAR, R.; MCCOY, D. D.; MCKEMY, D. D. Pharmacological blockade of TRPM8 ion channels alters cold and cold pain responses in mice. **PLoS One**, v.6 (9), p. 25894, 2011.

KRISTENSEN, K.; CHRISTENSEN, C. B.; CHRISTRUP, L. L. The mu1, mu2, delta, kappa opioid receptor binding profiles of methadone stereoisomers and morphine. **Life Science**, v. 56, p. 45-50,1995.

LANZETTI, M.; DA COSTA, C. A.; NESI R.T.; BARROSO, M. V.; MARTINS, V.; VICTONI, T.; et al. Oxidative stress and nitrosative stress are involved in different stages of proteolytic pulmonary emphysema. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 53, p. 1993–2001, 2012.

LATREMOLIERE, A.; WOOLF, C. J. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. **The Journal of Pain**, v. 10, p. 895–926, 2009.

LI, J. W. H.; VEDERAS, J. C. Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier? **Science**, v. 325, p. 161–165, 2009.

LILLY, B. O.; BREWER, J. H. The selective antibacterial action of phenethyl alcohol. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v. 42, p. 6–8, 1953.

LONGO, V.D.; GRALLA, E.B.; VALENTINE, J.S. Superoxide dismutase activity is essential for stationary phase survival in *Saccharomyces cerevisiae* - Mitochondrial production of toxic oxygen species in vivo. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 271(21), p. 12275-12280, 1996.

LUCHESE, C.; PINTON, S.; NOGUEIRA, C. W. Brain and lungs of rats are differently affected by cigarette smoke exposure: antioxidant effect of an organo selenium compound. **Pharmacological Research**, v. 59, p. 194–201, 2009.

LUO, Z. D.; CHAPLAN, S. R.; HIGUERA, E. S.; SORKIN, L. S.; STAUDERMAN, K. A.; WILLIAMS, M. E.; YAKSH, T. L. Upregulation of dorsal root ganglion (alpha)2(delta) calcium channel subunit and its correlation with allodynia in spinal nerve-injured rats. **Journal of Neuroscience**, v. 21(6), p. 1868-75, 2001

MAO, Y. F.; YAN, N.; XU, H.; SUN, J. H.; XIONG, Y.C.; DENG, X. M. Edaravone, a free radical scavenger, is effective on neuropathic pain in rats. **Brain Research**, v. 1248, p. 68–75, 2009.

MATTHEWS, E. A.; DICKENSON, A. H. Effects of spinally delivered N- and P-type voltage-dependent calcium channel antagonists on dorsal horn neuronal responses in a rat model of neuropathy. **Pain**, 2001.

MORADAS-FERREIRA, P.; COSTA, V. Adaptive response of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* to reactive oxygen species: defences, damage and death. **Redox Report**, v. 5, p. 277–285, 2000.

MURTA, G. L.; CAMPOS, K. K.; BANDEIRA, A. C.; DINIZ, M. F.; DE PAULA COSTA, G.; COSTA, D.C.; et al. Oxidative effects on lung inflammatory response in rats exposed to different concentrations of formaldehyde. **Environmental Pollution**, v. 211, p. 206–213, 2016.

NGO, L.T.; OKOGUN, J. I.; FOLK, W. R. 21st Century natural product research and drug development and traditional medicines. **Natural product reports**, v. 30, p. 584–92, 2013.

O'CONNOR A. B.; DWORKIN, R. H. Treatment of neuropathic pain: an overview of recent guidelines. **The American journal of medicine**, v.122, p. S22–32, 2009.

OHKAWA, H.; OHISHI, N. YAGI, K. Assay of lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v.95, p. 351–358, 1979.

OSTEEN, J. D.; HERZIG V, GILCHRIST J, EMRICK JJ, ZHANG C, WANG X et al. Selective spider toxins reveal a role for the NaV1.1 channel in mechanical pain. **Nature**, v. 534, p. 494–499, 2016.

PARK, E.S.; GAO, X.; CHUNG, J. M.; CHUNG, K. Levels of mitochondrial reactive oxygen species increase in rat neuropathic spinal dorsal horn neurons. **Neuroscience Letters**, v. 391, p.108–111, 2006.

PARK, J. M.; KIM, C. K.; LEE, H. C.; JUNG, H.; CHOI, K. U.; HONG, S. W.; LIM, D.G.; BAEK, W. Y.; KWAK, K. H. Antiallodynic effects of vitamin C and

vitamin E in chronic post-ischemia pain rat model. **Korean Journal of Anesthesiology**, v. 65, p. 442–448, 2013.

PATEL R, GONCALVES L, NEWMAN R, JIANG FL, GOLDBY A, REEVE J, HENDRICK A, TEALL M, HANNAH D, ALMOND S et al.: Novel TRPM8 antagonist attenuates cold hypersensitivity after peripheral nerve injury in rats. **J Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 349, p. 47-55, 2014.

PEREZ-GARRIDO, A. HELGUERA A. M.; CORDEIRO, M. N.; ESCUDERO A. G. QSPR Modelling with the topological substructural molecular design approach:  $\beta$ -cyclodextrin complexations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, n. 12, p. 4557-4575, 2009

PESKIN, A. V.; WINTERBOURN, C. C. A microtiter plate assay for superoxide dismutase using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1). **Clinica Chimica Acta**, v. 293, p. 157–166, 2000.

PETROVIC, K.; PFEIFER, M.; PARKER, C. N.; SCHUIERER, S.; TALLARICO, J.; HOEPFNER, D.; MOVVA, N. R.; SCHEEL, G.; HELLIWELL, S. B. Two low complexity ultra-high throughput methods to identify diverse chemically bioactive molecules using *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbiological Research**, v. 199, p. 10–18, 2017.

PFEIFFER, A.; BRANTL, V.; HERZ, A.; EMRICH, H.M. Psychotomimesis mediated by kappa opiate receptors. **Science**, v. 233, p. 774–776, 1986.

PINHO, E.; GROOTVELD, M.; SOARES, G.; HENRIQUES, M. Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 101(1), p. 121–135, 2014.

QUINTÃO, N. L.; MEDEIROS, R.; SANTOS, A. R.; CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J. B. The effects of diacerhein on mechanical allodynia in inflammatory and neuropathic models of nociception in mice. **Anesthesia & Analgesia**, v. 101, p. 1763-1769, 2005.

RAHMAN, K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. **Clinical Interventions in Aging**, v. 2, p. 219–36, 2007.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial crops and products**, v. 62, p. 260-264, 2014.

RODRIGUES, S. G.; MELO, N. F. S.; CHAVES, I.; PINTO, L. M. A. Computational analysis and physico-chemical characterization of na inclusion compound between praziquantel and methyl-cyclodextrin for use as na alternative in the treatment of schistosomiasis. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, Dordrecht**, v. 70, n. 1-2, p. 19-28, 2011.

ROSA, R. M.; MELECCHI M. I.; HALMENSCHLAGER, R. C.; ABAD, F. C. I. Antioxidant and antimutagenic properties of *Hibiscus tiliaceus* L. methanolic extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 7324-7330, 2006.

SALVEMINI, D.; LITTLE, J. W.; DOYLE, T.; NEUMANN, W. L. Roles of reactive oxygen and nitrogen species in pain. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 51, p. 951–966, 2011.

SCHWARTZ, E. S.; KIM, H. E.; WANG, J.; LEE, I.; KLANN, E.; CHUNG, J. M.; CHUNG, K. Persistent pain is dependent on spinal mitochondrial antioxidant levels. **Journal of Neuroscience**, v. 29, p. 159–168, 2009.

SCHWARTZ, E. S.; LEE, I.; CHUNG, K.; CHUNG, J. M. Oxidative stress in the spinal cord is an important contributor in capsaicin-induced mechanical secondary hyperalgesia in mice. **Pain**, v. 138, p. 514–524, 2008.

SEHATI, S.; CLEMENT, M.H.S.; MARTINS, J; XU, L.; LONGO, V.D.; VALENTINE, J.S.; GRALLA, E.B. Metabolic alterations in yeast lacking copper-zinc superoxide dismutase. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 50, p. 1591-1598, 2011.

SHARMA, P., JHA, A.B., DUBEY, R.S. and PESSARAKLI, M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Le Journal de Botanique**, v. 2012, p. 1-27.

SMITH, A. M.; COUPLAND, G.; DOLAN, L.; HARBERD, N.; JONES, J.; MARTIN, C.; SABLowski, R.; AMEY, A. Plant Biology. **Garland science**, p. 679, 2009.

SOARES, D. Z.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. Evaluation of compounds with antioxidant activity in yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 95-100, 2005.

SRINIVASAN, C.; LIBA, A.; IMLAY, J.A.; VALENTINE, J.S.; GRALLA, E.B. Yeast lacking superoxide dismutase(s) show elevated levels of "free iron" as measured by whole cell electron paramagnetic resonance. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 275(38), p. 29187-29192, 2000.

STEIN, C.; COMISEL, K.; HAIMERL, E.; YASSOURIDIS, A.; LEHRBERGER, K.; HERZ, A.; PETER, K. Analgesic effect of intraarticular morphine after arthroscopic knee surgery. **The New England Journal of Medicine**, 325, 1123–1126, 1991.

SU, L. C.; WANG, Y. H.; YU, Y. Y.; REN, K. L.; XIE, G. L.; WANG. Role of TRPM8 in dorsal root ganglion in nerve injury-induced chronic pain. **BMC Neuroscience**, v. 12 p. 120, 2011.

SULTANA, R.; PERLUIGI, M.; ALLAN BUTTERFIELD, D. Lipid peroxidation triggers neurodegeneration: a redox proteomics view into the Alzheimer disease brain. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 62, p. 157–169, 2013.

TAYLOR, C.P.; ANGELOTTI, T.; FAUMAN, E. Pharmacology and mechanism of action of pregabalin: the calcium channel alpha2-delta (alpha2-delta) subunit as a target for antiepileptic drug discovery. **Epilepsy Research**, v. 33, p. 137–150, 2007.

TEDESCHI, A.; BRADKE, F. The DLK signalling pathway—a double-edged sword in neural development and regeneration. **European Molecular Biology Organization**, v. 14, n. 6, 2013.

TOLEDANO, M.B.; DELAUNAY, A.; BITEAU, BENOIT; SPECTOR, D.; AZEVEDO, D. **Oxidative stress response in yeast**, In: Topics in Current Genetics, v. 1, p. 241-303, 2003.

TOLEDANO, M.B.; KUMAR, C.; MOAN, N.L.; SPECTOR, D.; TACNET, F. The system biology of thiol redox system in Escherichia coli and yeast: Differential functions in oxidative stress, iron metabolism and DNA synthesis. **FEBS Letters**, v. 581, p. 3598-3607, 2007.

TRUINI, A.; GARCIA-LARREA, L.; CRUCCU, G. Reappraising neuropathic pain in humans—how symptoms help disclose mechanisms. **Nature Reviews Neurology**, v. 9, p. 572–82, 2013.

VERRI JR, W. A.; SOUTO, F. O.; VIEIRA, S. M.; ALMEIDA, S. C.; FUKADA, S. Y.; XU, D.; ALVES-FILHO, J. C.; CUNHA, T. M.; GUERRERO, A. T.; MATTOS-GUIMARAES, R. B.; OLIVEIRA, F. R.; TEIXEIRA, M. M.; SILVA, J. S.; MCINNES, I. B.; FERREIRA, S. H.; LOUZADA-JUNIOR, P.; LIEW, F. Y. CUNHA, F. Q. IL-33 induces neutrophil migration in rheumatoid arthritis and is a target of antiTNF therapy. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 69, p. 1697–1703, 2010.

VERRI, W. A. J.; CUNHA, T. M.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H., CUNHA, F. Q. Cytokine inhibitors and pain control. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 47, p. 341–353, 2007.

VERRI, W. A.; CUNHA, T. M.; PARADA, C. A.; POOLE, S.; CUNHA, F. Q.; FERREIRA, S.H. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: targets for analgesic drug development? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 112, p. 116–138, 2006.

VON-HEHN, C.A.; BARON, R.; WOOLF, C. J. Deconstructing the neuropathic pain phenotype to reveal neural mechanisms. **Neuron**, v. 73, p. 638–52, 2012.

WALLACE, M.A.; LIOU, L.L.; MARTINS, J.; CLEMENT, M.H.S.; BAILEY, S.; LONGO, V.D.; VALENTINE, J.S.; GRALLA, E.B. Superoxide inhibits 4Fe-4S grupamento enzymes involved in amino acid biosynthesis: cross-compartment protection by CuZn-superoxide dismutase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 279(31), p. 32055-32062, 2004.

WANG C.Y.; CHEN, J. K.; WU, T.; TSAI, J.; SHYUE, S. K.; YANG, C. S.; TZENG, F. **Journal of Biomedical Science**, v. 18, p. 13, 2011.

WANG C.Y.; CHEN, J. K.; WU, T.; TSAI, J.; SHYUE, S. K.; YANG, C. S.; TZENG, F. **Journal of Biomedical Science**, v. 18, p. 13, 2011.

WANG, Y. H.; SUN, J. F.; TAO, Y. M.; CHI, Z. Q.; LIU, J. G. The role of kappa-opioid receptor activation in mediating antinociception and addiction. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 31, p. 1065–1070, 2010.

WATKINS, L. R.; MILLIGAN, E. D.; MAIER, S. F. Glial proinflammatory cytokines mediate exaggerated pain states: implications for clinical pain. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 521, p. 1–21, 2003.

WEN, X. J.; XU, S.Y.; CHEN, Z. X.; YANG, C. X.; LIANG, H.; LI, H. The roles of T-type calcium channel in the development of neuropathic pain following chronic compression of rat dorsal root ganglia. **Pharmacology**, v. 85, p. 295–300, 2010.

XING, H.; CHEN, M.; LING, J.; TAN, W.; GU, J. G. TRPM8 mechanism of cold allodynia after chronic nerve injury. **Journal of Neuroscience**, v. 27, p.13680-13690, 2007.

YOWTAK, J.; LEE, K. Y.; KIM, H. Y.; WANG, J.; KIM, H. K.; CHUNG, K.; CHUNG, J. M. Reactive oxygen species contribute to neuropathic pain by reducing spinal GABA release. **Pain**, v. 152, p. 844–852, 2011.

YUE, J.; LIU, L.; LIU, Z.; SHU, B.; ZHANG, Y. Upregulation of T-type Ca<sup>2+</sup> channels in primary sensory neurons in spinal nerve injury. **Spine**, v. 38, p. 463–470, 2013.

ZHANG, Q.; SCHAFFER, M.; ELDE, R.; STEIN, C. Effects of neurotoxins and hindpaw inflammation on opioid receptor immunoreactivities in dorsal root ganglia. **Neuroscience**, v. 85, p. 281–291, 1998.

ZHANGH, T. R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidante and anti-inflammatory effects. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 33–42, 2016.

## APENDICE

---

➤ **Informações acerca da patente deste trabalho.**

Os resultados presente neste trabalho estão sob pedido de deposito de patente intitulado:

“COMPLEXO DE INCLUSÃO CONTENDO O ALCOOL AROMÁTICO 2-FENILETANOL E  $\beta$ -CICLODEXTRINA E SEU USO NO TRATAMENTO DA DOR AGUDA E NEUROPATICA”

## CONCLUSÕES FINAIS

---

A partir dos resultados obtidos até o momento, foi possível concluir que:

- ✓ A revisão literária proporcionou uma visão geral do número de publicações envolvendo o 2-FE e sua utilização em cosméticos, alimentos e na indústria, porém nenhum estudo foi encontrado sobre sua aplicação em atividades biológicas e farmacológicas.
- ✓ A prospecção tecnológica mostrou que os depósitos patentários referentes ao 2-FE são bem menores que o número de artigos científicos publicados mostrando que a relevância no estudo do 2-FE é enorme devido este não apresentar nenhum resultado no quesito atividade farmacológica e sua utilização do ponto de vista tecnológico e mercadológico.
- ✓ 2-FE e 2-FECD promoveram antinocicepção quando avaliado em modelos de nocicepção química, não apresetaram alterações na atividade motora. 2-FE apresentou alterações sobre a capacidade locomotora, porém 2-FECD não revelou esta alteração. Dessa forma, o 2-FECD mostrou-se uma molécula promissora como uma futura droga analgésica.
- ✓ 2-FE não possui efeito alodínico mecânico agudo, mas o 2-FECD mostrou uma significancia aguda no aumento no limiar de retirada da pata. Por outro lado, no teste de alodinia térmica (acetona), 2-FE e 2-FECD reduziram os parâmetros de escores avaliados nos animais com LPNC.
- ✓ Durante a análise dos tratamentos crônicos, o 2-FE e 2-FECD aumentaram tanto o limiar de retirada da pata ao estímulo mecânico quanto estímulo ao frio. Porém o complexo de inclusão mostrou resultados bastante promissores devido ao efeito ter sido por doses mais baixas possivelmente pela liberação controlada, estabilidade do composto.

- ✓ O 2-FE e 2-FECD promoveram atividades antioxidantes em células leveduriformes normais e mutadas, levando a crer que a substância livre e complexada tiveram efeitos diretos sobre as ROS. Da mesma forma 2-FE e 2-FECD resultou em aumento da atividade da glutathiona reduzida (GSH) e diminuição da concentração de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), porém os efeitos apresentados em superóxido dismutase (SOD) só revelaram significância após um período maior de evento neuropático.

## PERSPECTIVAS

---

A partir dos resultados obtidos até o momento, têm-se como perspectivas a continuação da investigação da ação da atividade antinociceptiva e neuropática do 2-Feniletanol livre e complexado com ciclodextrina:

- ✓ Nos possíveis mecanismos de ação com o uso de ferramentas farmacológicas específicas.
- ✓ Nos mecanismos de ação na neuropatia diabética e neuropatia por quimioterápicos em camundongos.
- ✓ Nos mecanismos de ação na atividade neuropática pela quantificação de citocinas e interleucinas no gânglio e medula espinhal.
- ✓ Nos mecanismos de ação pela marcação neuronal de células específicas em astrócitos e micróglia.