

**VCUNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

PAULO HENRIQUE ELOI FERNANDES

**DESENVOLVIMENTO DE UM GASTROPROTETOR COM POTENCIAL ANTI-
INFLAMATÓRIO E ANALGÉSICO A PARTIR DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Algrizea*
*minor***

**Recife
2021**

PAULO HENRIQUE ELOI FERNANDES

**DESENVOLVIMENTO DE UM GASTROPROTETOR COM POTENCIAL ANTI-
INFLAMATÓRIO E ANALGÉSICO A PARTIR DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Algrizea*
*minor***

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Profa. Dra. Márcia Vanusa da Silva

Co-orientador: Me. Bruno de Oliveira Veras

**Recife
2021**

Catálogo na Fonte:
Elaine C Barroso, CRB-4/1728

Fernandes, Paulo Henrique Eloi

Desenvolvimento de um gastroprotetor com potencial antiinflamatório e analgésico a partir do óleo essencial de *Algrizea minor* / Paulo Henrique Eloi Fernandes – 2021.

99 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Márcia Vanusa da Silva
Coorientador: Bruno de Oliveira Veras

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Recife, 2021.

Inclui referências.

1. Óleos vegetais 2. Gastrite 3. Agentes antiinflamatórios I. Silva, Márcia Vanusa da (orient.) II. Veras, Bruno de Oliveira (coorient.) III. Título

665.3

CDD (22.ed)

UFPE/CB-2021-289

PAULO HENRIQUE ELOI FERNANDES

**DESENVOLVIMENTO DE UM GASTROPROTETOR COM POTENCIAL ANTI-
INFLAMATÓRIO E ANALGÉSICO A PARTIR DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Algrizea*
*Minor***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de concentração: Produção de Compostos Bioativos e Enzimas Industriais.

Aprovado em 30/08/2021.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Márcia Vanusa da Silva (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Me. Bruno de Oliveira Veras (Co-orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Tania Lucia Montenegro Stamford (Membro interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Maria Betânia Melo de Oliveira (Membro externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico o presente trabalho a todas as famílias que perderam seus entes queridos durante a pandemia, e a todos os pesquisadores do mundo, em especial aos brasileiros que em meio ao caos da pandemia e dos cortes de verba públicas não se abateram e nem desistiram de transformar o mundo através da ciência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela sabedoria, força e determinação para conseguir chegar até onde cheguei.

Agradeço a minha avó Maria das Mercês e as minhas tias Adriana, Andreia, Jane e Rosângela e primos Jennyfer, Julia, Julianne, Larissa, Thaís e Thiago pelo apoio e por sempre depositar em mim sua esperança de ver seu neto/sobrinho alcançando seus sonhos. Sempre se esforçou e se preocupou ao máximo para que nunca me faltasse à sabedoria de um bom estudo.

Agradeço a minha mãe Miriam, meu pai Eduardo e minha irmã Mirelly pelo apoio e por estarem comigo nos momentos que foram difíceis. Graças a vocês, eu me mantive forte nos meus desafios. Agradecer a todos os familiares por acreditarem no meu potencial.

Agradeço ao Programa de pós-graduação em Biotecnologia e aos seus integrantes (Docentes e funcionários) pela oportunidade de cursar o mestrado e pelos conhecimentos adquiridos.

A minha orientadora Márcia Vanusa pelo espaço, oportunidade e ensinamentos.

Agradecer a paciência, dicas, conselhos de todos os integrantes do grupo do núcleo de bioprospecção da Caatinga, em especial ao Bruno Veras, que esteve comigo nessa caminhada e se dedicou a me passar todos os seus conhecimentos. A minha amiga Elisabete que compartilhou comigo as aventuras de fazer um mestrado. A minha vida profissional está carregada de bons frutos graças as oportunidades que fui honrado em receber nesse laboratório.

Agradecer aos amigos/irmãos que conquistei dentro da universidade. Eles se fizeram presentes em todos os momentos. Aos meus amigos e parceiros, Adrianne, Bárbara, Bruno (Bira), Júnior, Marcos, Marília, Paulo, Thiago, Ryan quero levar vocês junto a mim tanto na vida pessoal, quanto na profissional, vocês são excelentes nos dois.

Agradecer aos meus amigos da vida, a Talytha e Daniella, vocês me abraçaram, desde o colégio e até hoje a gente não se soltou, vocês representam muito, e puderam acompanhar todo meu crescimento e evolução.

“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado.”

(Shinyashiki, 1984)

RESUMO

A *Algrizea spp.* pertence à família das *Myrtaceae* e está distribuída na Caatinga. Devido ao seu alto potencial de volatilização, os óleos essenciais necessitam de forma que minimizem a perda dos seus componentes. As ciclodextrinas são oligossacarídeos inertes capazes de formar os complexos de inclusão com outras moléculas. A gastrite é uma doença inflamatória, que apresenta episódios dolorosos que pode incluir a úlcera péptica gástrica e duodenal. O presente trabalho objetivou avaliar o potencial farmacológico do óleo essencial da *Algrizea minor* na forma livre e na forma complexada em β -Ciclodextrina. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação e caracterizado por Cromatografia Gasosa por Espectrometria de Massas e por Ionização em Chama. O complexo de inclusão foi preparado juntando o óleo essencial e β -Ciclodextrina e em seguida caracterizado por Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, Calorimetria de varredura diferencial e Termogavimetria. O teste de nocicepção foi realizado com ácido acético e pelo teste da formalina, neste último também foram avaliadas as vias de nocicepção e o potencial anti-inflamatório. Além disso, foi testada a capacidade gastroprotetora dos produtos vegetais a partir da agressão a mucosa, barreira física e vias da gastroproteção com etanol. Com os estômagos agredidos com etanol foi dosado as citocinas e o estresse oxidativo causado, além da histopatologia do tecido. O óleo se destacou pela presença β -Pino e α -Pino. A caracterização do complexo de inclusão revelou características tanto do óleo essencial quanto da β -Ciclodextrina. O teste de contorção por ácido acético inibiu 100% da percepção de dor. No teste da formalina foi mostrado uma atividade analgésica na primeira fase do teste pela via central. Além disso, foi verificada uma potente atividade anti-inflamatória. Na gastroproteção foi avaliado uma proteção de 100% na concentração de 200 mg/Kg do complexado, as vias que se destacaram na atuação da proteção pela produção de compostos sulfidrílicos, bloqueador da expressão de NO e bloqueador dos canais de K+ATP. A expressão de citocinas, estresse oxidativo e histologia corroboraram com os resultados apresentados na gastroproteção. Por fim, foi possível verificar uma intensa atividade gastroprotetora, analgésica e anti-inflamatória do produto vegetal da *A. minor* que foi potencializada quando complexada a β -Ciclodextrina.

Palavras chave: Anti-inflamatório; Antinociceptivo; Gastroprotetor; Óleo essencial; β -Ciclodextrina; β -Pino.

ABSTRACT

Algrizea spp. belongs to the Myrtaceae family and is distributed in the Caatinga. Due to their high potential for volatilization, essential oils need a way to minimize the loss of their components. Cyclodextrins are inert oligosaccharides capable of forming inclusion complexes with other molecules. Gastritis is an inflammatory disease that presents painful episodes that can include peptic gastric and duodenal ulcers. The present work aimed to evaluate the pharmacological potential of the essential oil of *Algrizea minor* in the free form and in the complexed form in β -Cyclodextrin. The essential oil was obtained by hydrodistillation and characterized by Gas Chromatography by Mass Spectrometry and by Flame Ionization. The inclusion complex was prepared by joining the essential oil and β -Cyclodextrin and then characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Differential Scanning Calorimetry and Thermogravimetry. The nociception test was performed with acetic acid and the formalin test, in the latter, the pathways of nociception and anti-inflammatory potential were also evaluated. In addition, the gastroprotective capacity of vegetable products from aggression to the mucosa, physical barrier and gastroprotection pathways with ethanol was tested. With the stomachs attacked with ethanol, cytokines and the oxidative stress caused were measured, in addition to tissue histopathology. The oil stood out due to the presence of β -Pinene and α -Pinene. The inclusion complex characterization revealed characteristics of both essential oil and β -Cyclodextrin. Acetic acid writhing test inhibited 100% of pain perception. In the formalin test, analgesic activity was shown in the first phase of the test via the central route. Furthermore, a potent anti-inflammatory activity was verified. In gastroprotection, 100% protection was evaluated at a concentration of 200 mg/Kg of the complexed, the pathways that stood out in the action of protection by the production of sulfhydryl compounds, NO expression blocker and K⁺ATP channel blocker. The expression of cytokines, oxidative stress and histology corroborated the results presented in gastroprotection. Finally, it was possible to verify an intense gastroprotective, analgesic and anti-inflammatory activity of the plant product of *A. minor*, which was enhanced when complexed with β -Cyclodextrin.

Keywords: Anti-inflammatory; Antinociceptive; Gastroprotector; Essential oil; β -Cyclodextrin; β -Pinene.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1- Delimitação do bioma da Caatinga. Fonte: <http://www.cerratinga.org.br/caatinga/>.....25
- Figura 1.2 - Esquema da biossíntese do metabolismo vegetal secundário (quadrados rosa) e seus percussores (quadrados vermelhos). Destacando a presença dos metabolitos primários (quadrado verde) e os metabolitos secundários (quadrado azul). Fonte: Moreira, 2015.....27
- Figura 1.3 - Esquema de formação dos terpenos a partir do IPP oriundo das vias do MEV e MEP. Fonte: NETO; SILVA; GONÇALVES, 2017.....28
- Figura 1.4 - Órgão de armazenamento dos óleos essenciais. (A) Glândula de óleo essencial na superfície da folha; (B) Corte transversal de uma folha com aparente visualização das glândulas de armazenamento. Fonte: GONÇALVES; GUAZZELLI, 2014.....29
- Figura 1.5 - Representação gráfica da ciclodextrina de acordo com o número de monômeros de glicopiranosose. (A) α -Ciclodextrina; (B) β -Ciclodextrina; (C) γ -Ciclodextrina. Fonte: SOUZA; FERRAZ-FREITAS; OLIVEIRA, 2016.....30
- Figura 1.6 - Ilustração do formato em copo da ciclodextrina. Fonte: VENTURINI et al.,2008.....30
- Figura 1.7 - Espécies do gênero Myrtaceae. Fonte: STADNIK; OLIVEIRA; ROQUE, 2016.....32
- Figura 1.8 - Ilustração de um processo de lesão gástrica. (A) Tecido estomacal sadio devido ao equilíbrio entre os agentes agressores e os de defesa; (B) Início do processo de dano ao tecido gástrico pelo desequilíbrio; (C) Lesão gástrica inflamatória já estabelecida. Fonte: ABUL K. ABBAS, 2015.....34
- Figura 1.9 - Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). Óleo essencial (linha preta), mistura física (linha vermelha), complexado (linha azul).....53
- Figura 1.10 - Termograma por calorimetria exploratória diferencial (DSC). (A) Óleo essencial *Algrizea minor*; (B) Mistura física; (C) β -Ciclodextrina; (D)

Complexo de inclusão β -Ciclodextrina/ Óleo essencial <i>Algrizea minor</i>	56
Figura 1.11 - Curvas de perda de massa de acordo com o aumento da temperatura por termogravimetria (TG). (OEAm) Óleo essencial <i>Algrizea minor</i> ; (MF) Mistura física; (β -CD) β -Ciclodextrina; (β -CD/OEAm) Complexo de inclusão β -Ciclodextrina/ Óleo essencial <i>Algrizea minor</i>	57
Figura 1.12 - Atividade antinociceptiva por dor abdominal induzida por ácido acético (0,8%) intraperitoneal do óleo essencial e do complexo de inclusão em β -ciclodextrina da <i>Algrizea minor</i> . Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.....	59
Figura 1.13 - Atividade antinociceptiva do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da <i>Algrizea minor</i> por indução com 2,5% de formalina intraplantar, fase neurológica. Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.....	60
Figura 1.14 - Atividade antinociceptiva do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da <i>Algrizea minor</i> por indução com 2,5% de formalina intraplantar, fase inflamatória. Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.....	61
Figura 1.15 - Atividade gastroprotetora do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da <i>Algrizea minor</i> por indução com etanol (v.o.). Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.....	63
Figura 1.16 - Atividade de barreira física do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da <i>Algrizea minor</i> por indução com etanol por via oral e intraperitoneal. As imagens dos estômagos são correspondentes as vias. Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.....	65
Figura 1.17 - Atividade de vias da gastroproteção do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da <i>Algrizea minor</i> por indução com etanol por via oral. L-NAME (bloqueador da expressão de NO), NEM (bloqueador dos grupos sulfidríla), INDO (produção de prostaglandinas), GLI (bloqueador dos canais de K ⁺ ATP), NALO	

(ativação da via opióide). Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.....66

Figura 1.18 - Ilustração da atividade de vias da gastroproteção do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da *Algrizea minor* por indução com etanol por via oral. L-NAME (bloqueador da expressão de NO), NEM (bloqueador dos grupos sulfidril), INDO (produção de prostaglandinas), GLI (bloqueador dos canais de K+ATP), NALO (ativação da via opióide). Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.....68

Figura 1.19 – Influencia do óleo essencial da *Algrizea minor* na forma livre e complexada nos níveis de TNF- α em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Os dados são apresentados como médias \pm DP. Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.....69

Figura 1.20 – Influencia do óleo essencial da *Algrizea minor* na forma livre e complexada nos níveis de IL-1 β em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Os dados são apresentados como médias \pm DP. Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.....70

Figura 1.21 - Determinação de componentes do estresse oxidativo oriundo da atividade gastroprotetora do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da *Algrizea minor* por indução com 0,8% de etanol por via oral. Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.....71

Figura 1.22 - Histologia do estômago. A- Controle: Região glandular do estômago. Mucosa (Mc) com fossetas gástricas revestidas por epitélio colunar simples (Setas); Glândulas da região da base(círculo); muscular da mucosa (* vermelho); Muscular (m); Submucosa (Sb) com presença de Vasos sanguíneos (Vs) e apresentando um moderado infiltrado inflamatório (* preto). B- Nativo: Mucosa estomacal preservada, com fossetas gástricas revestidas por epitélio colunar simples (Setas longas); Presença de células parietais (Setas curtas) na região do istmo da fosseta, Glândulas da região da base (círculo). C-

Carbenoxolona: Região glandular do estômago. Mucosa (Mc) com fossetas gástricas revestidas por epitélio colunar simples (Setas); Glândulas da região da base(círculo); muscular da mucosa (*); Muscular (m); Submucosa (Sb) com presença de Vasos sanguíneos (Vs) e apresentando um leve infiltrado inflamatório (*); Serosa (seta curta). D: OEAM 50: Região glandular do estômago semelhante ao controle positivo, apresentando um leve infiltrado inflamatório (* vermelho). E- OEAM 100. Região glandular do estômago apresenta uma leve degeneração na mucosa (* vermelho). F- OEAM 200. Região glandular do estômago preservada, hemácias (* vermelho). G- β -CD/OEAM 50: Região glandular do estômago preservada. H- β -CD/OEAM 100: Região glandular do estômago preservada. I- β -CD/OEAM 200: Região glandular do estômago preservada. J- β -CD: apresentando um leve infiltrado inflamatório (* vermelho) na submucosa.

	AU	100X;	Coloração
H.E.....			74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Constituintes químicos (%) identificados no óleo essencial das folhas de Algrizea minor.....	48
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

β -CD – Beta-Ciclodextrina

β -CD/OEAm - Beta-Ciclodextrina/Óleo essencial *Algrizea minor*

(m/m) – massa por massa

(m/v) - massa por volume

AINEs - Anti-inflamatórios não esteroidais

A δ - fibras A δ

CD – Ciclodextrina

CG / EM - Cromatografia Gasosa com Espectrômetro de Massa

COX – ciclooxigenase

GC-DIC - Cromatografia Gasosa Acoplada ao Detector de Ionização de Chama

i.p.- Via intraperitoneal

IL-1 β - interleucina-1 beta

IL-8 – Interleucina 8

ISO - *International Organization for Standardization*

K⁺ - Potássio

NF- κ B - Fator nuclear κ B

OE - Óleo essencial

OEA m – Óleo essencial *Algrizea minor*

TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa

UV - Ultravioleta

v.o. - Via Oral

α -CD - α -ciclodextrina

β -CD - β -ciclodextrina

γ -CD - γ -ciclodextrina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	OBJETIVOS	22
2.1	OBJETIVO GERAL.....	22
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	23
3.1	PLANTAS MEDICINAIS	23
3.2	PRODUTOS BIOATIVOS DA CAATINGA.....	24
3.3	ÓLEO ESSENCIAL	25
3.4	CICLODEXTRINA.....	29
3.5	<i>ALGRIZEA MINOR</i>	31
3.6	INFLAMAÇÃO GÁSTRICA	33
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	MATERIAL BOTÂNICO	39
4.2	EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	39
4.3	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL.....	39
4.4	PREPARAÇÃO DO COMPLEXO DE INCLUSÃO	40
4.5	CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXADO.....	41
4.5.1	Espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FTIR)	41
4.5.2	Análises Térmicas	41
4.6	MODELO EXPERIMENTAL.....	42
4.7	ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA POR ÁCIDO ACÉTICO (0,8%)	42
4.8	NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA E MECANISMO DE AÇÃO ENVOLVIDO.....	42
4.9	ATIVIDADE GASTROPROTETORA.....	43
4.10	VIAS DE AÇÃO DA GASTROPROTEÇÃO.....	44
4.10.1	Receptores opióides	44
4.10.2	Canais K + dependentes de ATP (K + - ATP)	44
4.10.3	Óxido nítrico (NO)	45
4.10.4	Compostos sulfidrílicos (-SH)	45
4.10.5	Síntese de PGE2	46
4.11	TESTE DE BARREIRA FÍSICA.....	46

4.12	DOSAGEM DE CITOCINAS	47
4.13	DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS OXIDATIVOS.....	47
4.14	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA.....	47
4.15	ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1	OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E RENDIMENTO	48
5.2	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL.....	48
5.3	CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO DE INCLUSÃO	52
5.3.1	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	52
5.3.2	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	54
5.3.3	Termogravimetria (TG)	56
5.4	ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA POR ÁCIDO ACÉTICO (0,8%)	58
5.5	NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA E MECANISMOS DE AÇÃO	59
5.6	ATIVIDADE GASTROPROTETORA.....	62
5.7	TESTE DE BARREIRA FÍSICA.....	64
5.8	VIAS DA GASTROPROTEÇÃO	65
5.9	DOSAGEM DE CITOCINAS	68
5.10	DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS OXIDATIVOS.....	70
5.11	AVALIAÇÃO DA HISTOLOGIA GÁSTRICA.....	72
6	CONCLUSÃO	76
	REFERÊNCIAS	77

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais faz parte da prática da medicina popular antiga, sendo usadas dessa maneira há milhares de anos (PANYADEE et al., 2019). A difusão desse conhecimento popular permitiu com que as plantas fossem positivamente selecionadas para sanar as necessidades de cura de determinadas enfermidades primárias (ISABELA, 2018).

A Caatinga abrange cerca de 840 km² de área no Brasil, isso significa 11% do território, sendo a região Nordeste a que comporta a maior área (MAGALHÃES et al., 2019). A sua flora diversificada representa uma fonte promissora com potenciais de novas moléculas bioativas, as quais, muitas possuem atividade biológica, que podem ser utilizadas para reverter quadros de distúrbios fisiológicos (VIEIRA et al., 2016).

Os óleos essenciais são uma fração volátil e aromática obtidas de vários tecidos vegetais a partir de destilação por arrastamento de vapor d'água, ou por destilação a seco ou prensagem a frio (TOHIDI; RAHIMMALEK et al., 2019). Oriundo do metabolismo secundário ou auxiliar, estes são armazenados em glândulas presentes nos tecidos vegetais e abrangem uma mistura complexa que inclui alcoóis, aldeídos, cetonas, ésteres e terpenos (BORGES et al., 2019). Devido ao fato de apresentarem uma alta capacidade de volatilizar e de ser oxidado pela interferência de luz UV (UVA / UVB), o seu uso no formato livre é pouco aproveitável tendo em vista que há perda de conteúdos importantes. Desse modo, sua utilização integrado em emulsões ou através de encapsulamento ou conjugados a moléculas inertes tem ganhado espaço nas indústrias, especialmente na farmacêutica (DOS SANTOS et al., 2020; PRAKASH et al., 2018).

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos formados através de ligações α -1,4 glicosídicas, e se diferenciam de acordo com o número de monômeros de glicopiranoses presentes (LIU et al., 2020). As CDs possuem uma conformação de copo, e essa estrutura auxilia no abrigo de compostos no seu interior, formando complexos de inclusão (hospede hospedeiro). Este complexo é uma das mais importantes características das CDs, pois é a partir desse mecanismo

que as ciclodextrinas conseguem ser empregada na indústria alimentícia, ambiental e principalmente farmacêutica (ROY et al., 2020).

A *Algrizea* spp. foi catalogada como um novo gênero, pertencente à família das Myrtaceae, pela primeira vez em 2006, antes disso ela era conhecida como *Psidium* L., porém devido as várias características anatômicas divergentes, os taxonomistas criaram este novo gênero (PROENÇA et al., 2006). Contudo, em 2010 com o avanço das tecnologias moleculares, uma nova espécie do gênero *Algrizea* spp. foi identificada e começou um processo de bioprospecção da espécie em busca de metabolitos capazes de modular alterações fisiológicas (SOBRAL et al., 2010).

O óleo essencial da *Algrizea minor* foi caracterizado pela primeira vez por OLIVEIRA DE VERAS et al. (2020) e se destacou pela alta concentração de β -Pino. Este monoterpene é encontrado em associação com o seu isômero α -Pino, e já foram relatados fazendo parte da composição do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) (PEREIRA et al., 2017) *Petroselinum crispum* (Salsa) (ZHANG et al., 2006). As atividades biológicas associadas ao β -Pino incluem efeito analgésico, antimicrobiano, antioxidante, antidepressivo, contudo, seu potencial gastroprotetor ainda não foi descrito. (FARHADI et al., 2020)

A gastrite é uma doença inflamatória dolorosa que pode incluir a úlcera péptica, gástrica e duodenal, com alta incidência no mundo afetando aproximadamente de 5 a 10% da população geral, acarretando morbidade e mortalidade (CARLOTTO et al., 2019). As úlceras se desenvolvem quando há um desequilíbrio entre os fatores de proteção e os agentes agressivos. Os fatores protetores contam com a presença de bicarbonato, camada de muco, fluxo sanguíneo da mucosa, presença de prostaglandinas, sistema antioxidante, compostos sulfidrílicos, óxido nítrico e proliferação celular, já os fatores agressivos são estabelecidos como a infecção por *Helicobacter pylori*, presença de ácido clorídrico em excesso, pepsinas, ácidos biliares, uso contínuo de Anti-inflamatórios Não Esteroidais (AINEs), processo de isquemia e hipóxia, assim como o hábito do tabagismo e alcoolismo. Esse desequilíbrio ocorre na superfície luminal das células epitelial estomacal (PEREIRA BARBOSA et al., 2019).

Os OE se destacam por ser uma alternativa terapêutica menos agressiva, e por sua vez, tem se mostrado um potente agente de proteção gástrica, envolvendo a

produção de compostos benéficos e/ou inibindo os mecanismos danos diretamente ao tecido gástrico (FERNANDES et al., 2012). A *Croton rhamnifolioides*, além de agir através da modulação de receptores opioides e óxido nítrico, também atua favorecendo a liberação de muco e de bicarbonato, garantindo uma proteção aos danos gástricos (VIDAL et al., 2017). Com isso, o desenvolvimento de um fármaco fitoterápico, de ação gastroprotetora, analgésica e anti-inflamatória, com boa biodisponibilidade e baixos efeitos colaterais tem sido uma alternativa biotecnológica promissora. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi elaborar um produto gastroprotetor, analgésico e anti-inflamatório utilizando óleo essência de *A. minor* complexado em β -Cliclodextrina.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver um fitoterápico com base no óleo essencial das folhas de *Algrizea minor* complexado em moléculas de β -Ciclodextrina com atividade gastroprotetora.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter e caracterizar quimicamente o óleo essencial das folhas de *A. minor*;
- Obter e caracterizar complexos de inclusões contendo o óleo essencial;
- Investigar a atividade antinociceptiva do óleo essencial e do complexado;
- Investigar os possíveis mecanismos de ação envolvidos na atividade antinociceptiva do óleo essencial e do complexado;
- Avaliar atividade gastroprotetora do óleo essencial e do complexado;
- Avaliar as vias de ação da gastroproteção do óleo essencial e do complexado.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. PLANTAS MEDICINAIS

O uso de plantas medicinais faz parte da prática da medicina popular antiga, sendo usadas dessa maneira há milhares de anos (Cragg e Newman, 2001), dessa forma, consegue constituir um conjunto de saberes internalizada em diversos usuários, sendo uma prática ainda comum e bem conservada (ISABELA, 2018; PANYADEE et al., 2019), principalmente nas áreas rurais de todo o mundo (World Health Organization, 2002) pois estas são, na maioria das vezes, o único recurso disponível para o tratamento de doenças da população local (ROQUE, 2010). A difusão desse conhecimento popular permitiu com que as plantas fossem positivamente selecionadas para sanar as necessidades de cura de determinadas enfermidades primárias (ISABELA, 2018), e ainda são caracterizadas por apresentarem baixa toxicidade (Pradhan et al., 2012, ZENI, 2017).

Os fitoterápicos, como são chamadas as preparações farmacológicas a partir das plantas com poder medicinal, são usadas para as mais diversas finalidades terapêuticas, servindo para tratar ou prevenir doenças e infecções (CALZETTA et al., 2020). As moléculas extraídas das plantas medicinais são os responsáveis por promover o tratamento (BOUYAHYA et al., 2020). Elas que por sua vez, são oriundas do metabolismo vegetal auxiliar, são produzidas a partir da contribuição de agentes bióticos como a presença de microorganismos patogênicos, assim como os agentes abióticos como clima e composição do solo (BOUYAHYA et al., 2020; HAO et al., 2020).

O metabolismo secundário das plantas é o principal responsável pelo seu processo adaptativo ao meio, e por esse motivo há geração de moléculas bioativas que possuem diversas atividades modulatórias, capazes de contribuir com sua proteção, polinização, fator hormonal, entre outros (DUARTE et al., 2020). Sendo assim, os vegetais podem produzir moléculas como os terpenos, alcaloides, flavonoides e polifenóis, e assim como esses compostos são úteis a sobrevivência das plantas, elas são também os responsáveis pela ação terapêutica encontrada em muitos dos fitoterápicos (HAO et al., 2020; LI et al., 2020).

Mesmo que muito popularizado, o uso de material vegetal como matéria

prima para a produção de fitoterápicos não abrange a todas as espécies, pois, alguns exemplares podem produzir substâncias que são tóxicas em animais, podendo provocar de alergias a envenenamento (ISABELA et al., 2018; MOROOLE et al., 2019).

3.2. PRODUTOS BIOATIVOS DA CAATINGA

A Caatinga abrange cerca de 840 km² de área no Brasil, isso significa 11% do território (Figura 1), sendo a região Nordeste a que contempla a maior parte desse bioma (MAGALHÃES et al., 2019). Devido a sua posição geográfica, a Caatinga recebia uma escassa atenção, sendo classificada como uma região pobre e com pouca diversidade (MAGALHÃES et al., 2019; TRENTIN et al., 2011), isso ocorria, principalmente, por causa da baixa umidade e pouco recurso hídrico, que era refletido na presença de um solo seco, e com predominância de vegetação arbustiva (DE ALMEIDA et al., 2005; TRENTIN et al., 2011). Entretanto, estudos revelaram que a região, mesmo com um clima não favorável, abriga diversas espécies vegetais, nas quais uma grande quantidade é de origem endêmica, não sendo encontradas em nenhuma outra região do mundo (ALBUQUERQUE; OLIVEIRA, 2007; MAGALHÃES et al., 2019).

O interesse da comunidade científica em desvendar os mistérios escondidos nas terras secas da Caatinga surgiu a partir da disseminação do saber popular, onde pessoas, geralmente mais velhas, utilizavam de sua herança de conhecimentos sobre as plantas encontradas na região, e como elas podiam ser utilizadas como recursos para curar patologias e infecções (DE ALMEIDA et al., 2010). A partir desse momento a flora diversificada da caatinga despertou-se como uma fonte de potenciais novas moléculas bioativas, as quais seriam capazes de obter atividade biológica, sendo possível reverter quadros de distúrbios fisiológicos (ALBUQUERQUE; OLIVEIRA, 2007; VIEIRA et al., 2016).

Por conta do seu potencial terapêutico, a caatinga e sua vegetação se tornaram um dos mais importantes produtores de compostos bioativos da indústria farmacêutica (DE ALMEIDA et al., 2010; VIEIRA et al., 2016). Isso ocorre devido às espécies do bioma da Caatinga representem uma adaptação ao clima seco e semi-árido, e isto vai resultar em espécies mecanicamente adaptados, levando a

contribuição do surgimento de metabólitos secundário em alta quantidade (SILVA, 2016).

A busca implacável por fitoterápicos oriundos desse bioma deu origem a estudos e resultados positivos para combater infecções bacterianas (COSMO ANDRADE et al., 2019; LUNA et al., 2020), parasitárias (DE BRUM VIEIRA et al., 2017) e fungicas (COSMO ANDRADE et al., 2019), além de modular a resposta inflamatória (BITENCOURT et al., 2019; COSTA et al., 2020), controlar doenças crônicas como diabetes (DE MOURA BARBOSA et al., 2018; GIORDANI et al., 2015) e hipertensão (SANTOS et al., 2015) e impedir a proliferação de células cancerígenas (GUERRA et al., 2017). Assim, de forma progressiva, a Caatinga tem revelado alternativas farmacológicas promissoras no combate a enfermidades.

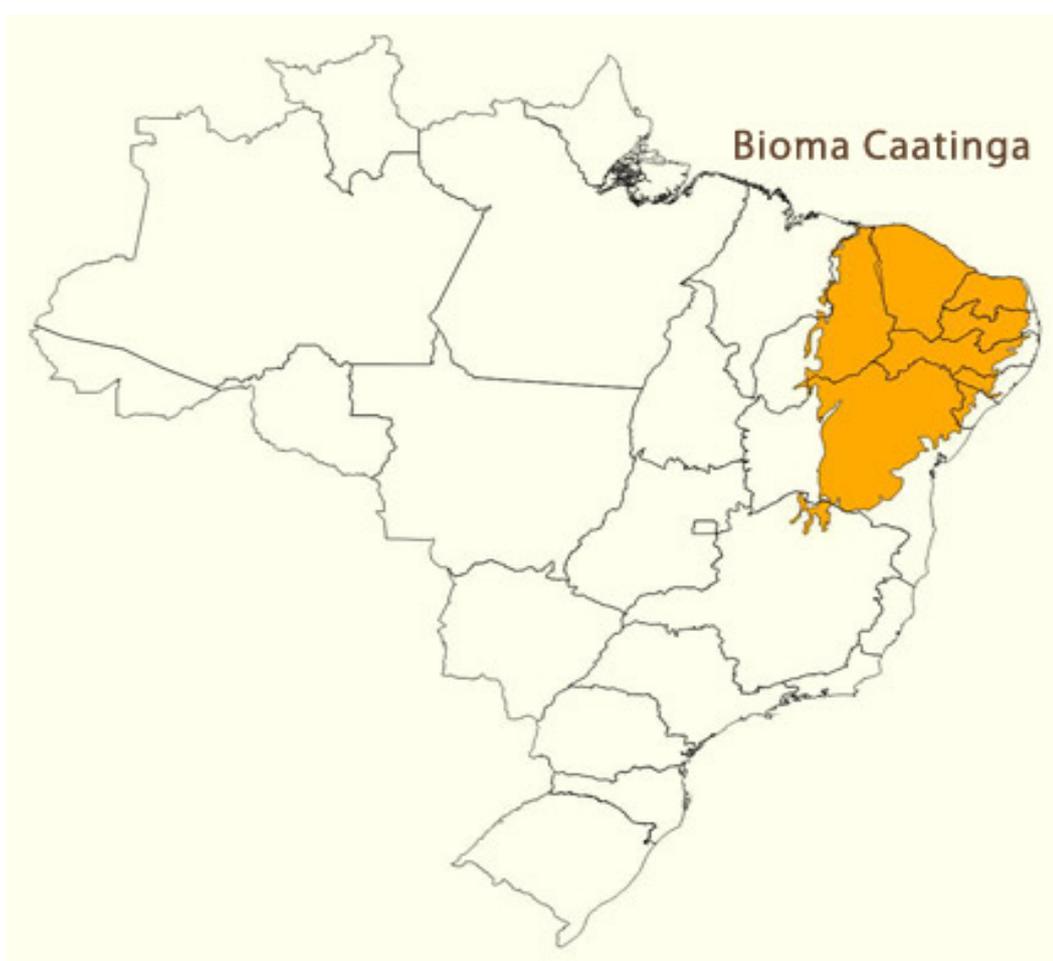


Figura 1 - Delimitação do bioma da Caatinga. Fonte: <http://www.cerratinga.org.br/caatinga/>

3.3. ÓLEO ESSENCIAL

O uso dos óleos essenciais (OE) e seus compostos ativos são empregados há décadas, porém com o avanço da ciência e o aperfeiçoamento de técnicas analíticas foi possível identificar, catalogar e atribuir às suas legítimas atividades biológicas (SILVESTRE et al., 2019). A ascensão da cromatografia, microscopia, espectrometria favoreceu a implementação dos OE no ramo da indústria farmacêutica, cosmética, agrícola e alimentícia em substituição aos produtos sintéticos, tendo em vista que, de modo geral, os OE são menos prejudiciais a saúde e ao meio ambiente (SILVESTRE et al., 2019; TOHIDI; RAHIMMALEK; TRINDADE, 2019).

Segundo a *International Organization for Standardization* (ISO) os óleos essenciais são uma fração volátil e aromática obtidas de vários tecidos vegetais a partir de destilação por arrastamento de vapor d'água ou por destilação a seco ou prensagem a frio (NOGUEIRA et al., 2007; TOHIDI; RAHIMMALEK et al., 2019). Oriundo do metabolismo secundário ou auxiliar, os OE são armazenados em glândulas presentes nos tecidos vegetais e o seu rendimento e constituição vai depender do estágio de desenvolvimento do material vegetal e da variação sazonal (BORGES et al., 2019; GONÇALVES; GUAZZELLI et al., 2014).

A composição química dos OE abrange uma mistura complexa que inclui alcoóis, aldeídos, cetonas, ésteres e terpenos (BORGES et al., 2019). Sabe-se ainda, que dentro de uma mesma espécie é comum obter uma constituição quantitativamente variável, devido, principalmente a sazonalidade, enquanto que qualitativamente não são observadas variações (BASAIID et al., 2020). As variações dos componentes metabólicos podem estar ligada a um quantitativo de isômeros ópticos (cis / trans, E / Z), principalmente em compostos terpenóides (GIANNOULIS et al., 2020; SILVESTRE et al., 2019).

Nessa perspectiva, os metabólitos secundários fazem parte de um subconjunto do metaboloma, sendo oriundos das vias básicas como a via do acetato malonato, do ácido mevalônico (MEV), do metileritritol fosfato (MEP) e do ácido chiquímico (NETO et al., 2017; PRASANSUKLAB et al., 2020). A produção dos metabólitos através da via secundária está disponível nos mais diversos tecidos vegetais (GUADIE et al., 2020). Devido à diversidade de

biomoléculas, a sua síntese pode ocorrer por várias rotas (ABUBAKAR et al., 2020; LI et al., 2020)

O estudo com óleos essenciais destacou a presença de terpenos como seus principais constituintes. Os terpenos são uma classe de metabólitos secundários oriundos das vias do ácido mevalônico e do metileritritol fosfato (MEP) que são formados a partir de produtos do metabolismo primário como Acetil-CoA, piruvato e 3-fosfoglicerato (VRANOVÁ et al., 2013) (Figura 2). Os terpenos são uma classe de metabólitos construídos a partir da junção sucessiva de unidades de cinco carbonos denominadas de isopentenilpirofosfato (IPP) que vai dar origem a outros terpenos, monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30), Tetraterpeno (C40) (XU et al., 2017) (Figura 3). Os monoterpenos, assim como os sesquiterpenos, devido ao seu baixo peso molecular são os compostos mais voláteis do grupo dos terpenóides e são utilizados pelas plantas como mecanismo de defesa contra pragas, assim como servem para incentivar a polinização feita por animais, principalmente durante a noite o que evita sua volatilização e perda de propriedades (XU et al., 2017).

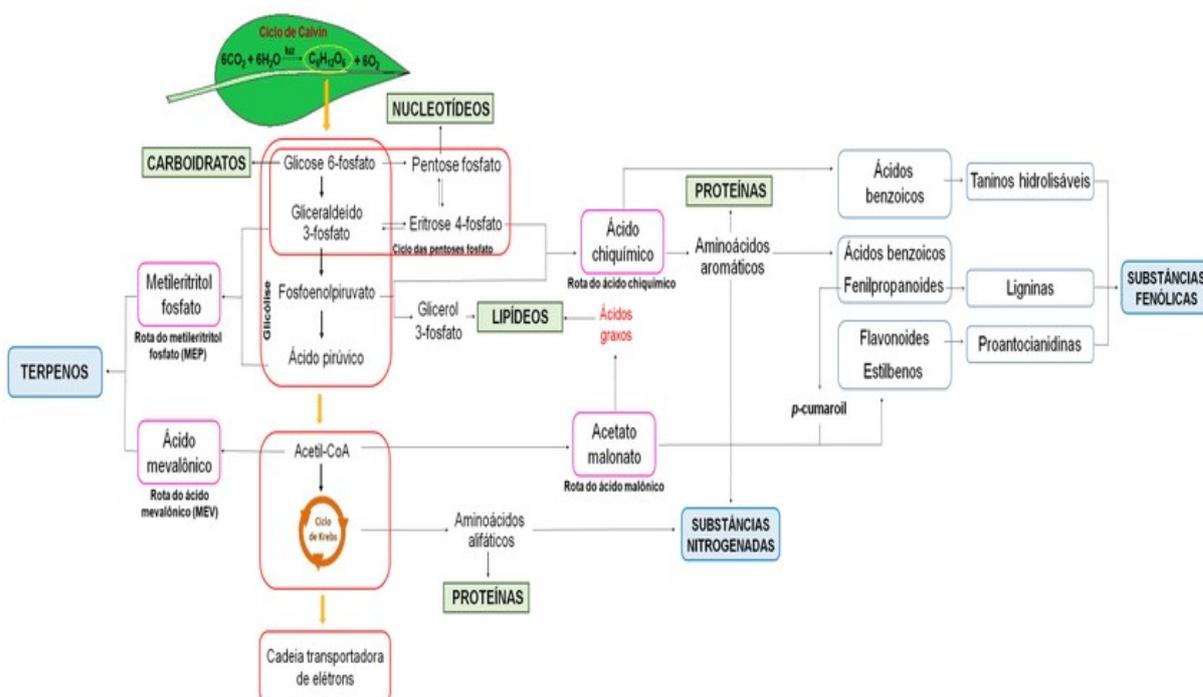


Figura 2 - Esquema da biossíntese do metabolismo vegetal secundário (quadrados rosa) e seus percussores (quadrados vermelhos). Destacando a presença dos metabólitos primários (quadrado verde) e os metabólitos secundários (quadrado azul). Fonte: Moreira, 2015

As complexas estruturas químicas que os terpenos são capazes de formar, através de suas junções combinatórias, dão origem a milhares de compostos

diferentes, que servem para modular a sobrevivência das plantas, e tem ganhado espaço na ciência etnofarmacológica com a finalidade de produzir medicamentos com base vegetal (BOUYAHYA et al., 2020). Os terpenos podem ser produzidos nas plantas por diferentes locais e precisam ficar armazenados até o momento de sua liberação para garantir que não haja volatilização dos seus componentes, sendo assim, eles podem ser produzidos por pelos glandulares, células parenquimáticas diferenciadas; canais oleíferos ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas, e ficam armazenados nas flores, frutos, casca do caule, folhas (PICHERSKY et al., 2002) (Figura 4).

A produção de óleo essencial está diretamente ligada à herança genética que as plantas carregam, entretanto os fatores bióticos e abióticos do ambiente que a planta está inserida influenciam no conteúdo produzido, e na quantificação dos compostos químicos, pois quando são submetidas a estresses elas ficam condicionadas a se adaptarem ao novo momento e com isso há uma maior produção de metabólitos secundários (HAO et al., 2020).

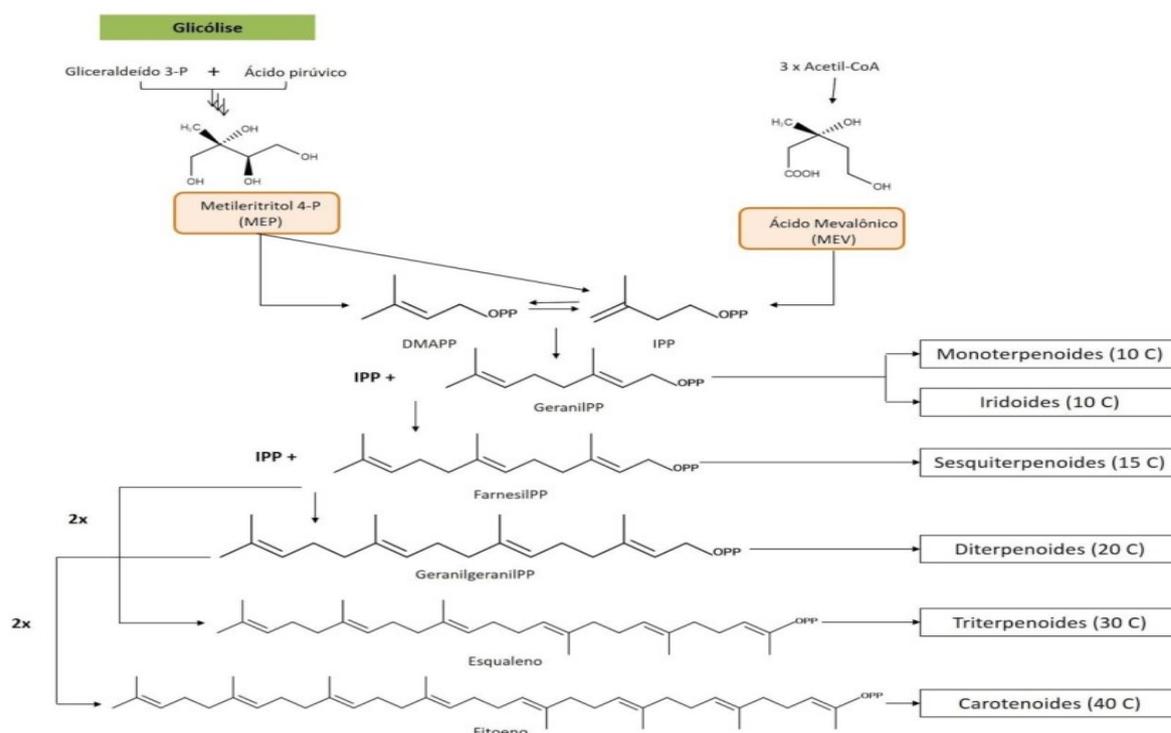


Figura 3 - Esquema de formação dos terpenos a partir do IPP oriundo das vias do MEV e MEP. Fonte: NETO; SILVA; GONÇALVES, 2017

Depois de ser extraído os OE apresentam uma leve desvantagem comparando a outros compostos, pois ele tem capacidade de volatilizar e de ser oxidado pela interferência de luz UV (UVA / UVB), assim o sua utilização no formato livre é pouco empregado, priorizando uma integração do OE em emulsões ou através de encapsulamento ou conjugados a moléculas inertes (DOS SANTOS et al., 2020; PRAKASH et al., 2018).

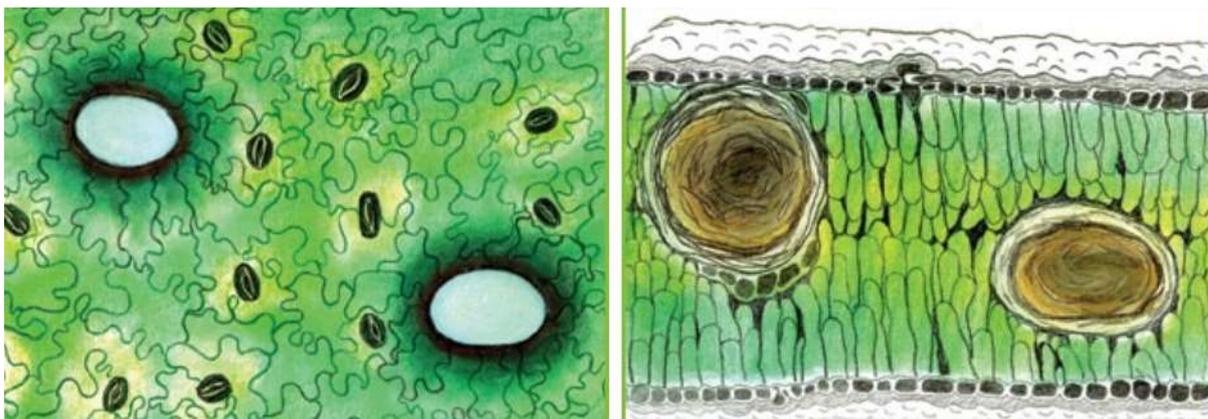


Figura 4 - Órgão de armazenamento dos óleos essenciais. (A) Glândula de óleo essencial na superfície da folha; (B) Corte transversal de uma folha com aparente visualização das glândulas de armazenamento. Fonte: GONÇALVES; GUAZZELLI, 2014

3.4. CICLODEXTRINA

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos formados através de ligações α -1,4 glicosídicas a partir da degradação do amido pela enzima ciclodextrina- α -glicosiltransferase (CGTase) produzida por microorganismos (LIU et al., 2020; TIAN et al., 2020). Formadas por um conjunto de monômeros de forma cíclica, sem a capacidade redutora, as CDs podem ser classificadas de acordo com o número de monômeros de glicopirranose presente (BAE et al., 2019; LIU et al., 2020). A α -ciclodextrina (α -CD) é composta por seis monômeros, β -ciclodextrina (β -CD) é formada por um conjunto de sete monômeros, enquanto a γ -ciclodextrina (γ -CD) (Figura 5) é composta por oito unidades monoméricas (BAE et al., 2019; ROY; BOMZAN; NATH ROY, 2020).

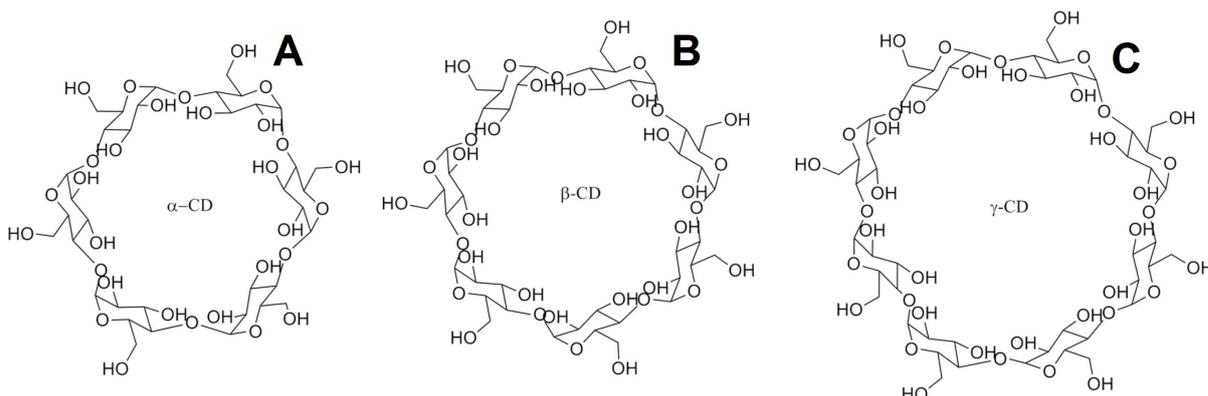


Figura 5 - Representação gráfica da ciclodextrina de acordo com o número de monômeros de glicopirranose. (A) α- Ciclodextrina; (B) β-Ciclodextrina; (C) γ-Ciclodextrina. Fonte: SOUZA; FERRAZ-FREITAS; OLIVEIRA, 2016

Estudos revelaram que as CDs carregam a característica química de serem anfipáticas, sendo assim, uma mesma molécula possui afinidade por compostos polares na sua porção externa hidrofílica, e apolar na sua porção interna lipofílica. (BAE et al., 2019). O caráter anfipático das CDs é devido à presença de hidroxilas e suas posições dentro da glicopirranose (KANCHANA et al., 2020; TIAN; HUA; LIU, 2020). Na porção externa as hidroxilas sofrem menos impedimento estérico e são nucleofílicas, dessa forma, elas conseguem se associar facilmente a compostos polares, enquanto que as hidroxilas internas sofre um intenso impedimento estérico, que por sua vez, não consegue se associar a compostos polares (KANCHANA et al., 2020).

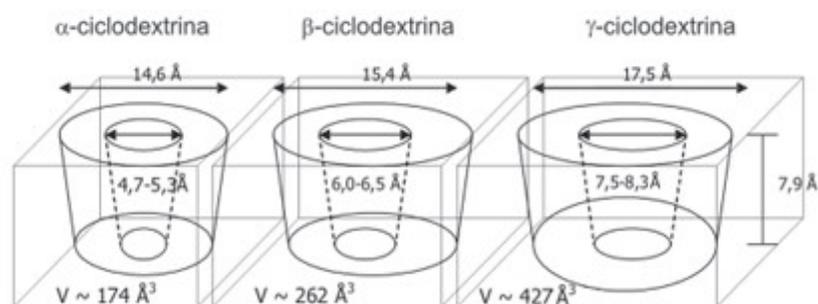


Figura 6 - Ilustração do formato em copo da ciclodextrina. Fonte: VENTURINI et al., 2008

As CDs possuem uma conformação de copo (Figura 6), e auxilia que consigam abrigar compostos no seu interior, formando os complexos de inclusão

(hospede-hospedeiro) (RADU et al., 2016; ROY et al., 2020; SHERJE et al., 2017). O Complexo de inclusão é uma das mais importantes características das CDs, pois é a partir desse complexo que as ciclodextrinas conseguem ser empregada na indústria alimentícia, ambiental e principalmente farmacêutica (ROY et al., 2020).

As produções farmacêuticas a partir de complexos de inclusão tornam-se importantes, pois há um aumento da solubilidade, biodisponibilidade, estabilidade físico-química e fisiológica dos compostos bioativos, além da facilidade de entregar os ingredientes farmacêuticos no formato ativado ao organismo (ADEOYE et al., 2017) A multifuncionalidade do complexo de inclusão é desejável, principalmente, nos medicamentos orais, devido à capacidade de alcançar a circulação sistêmica com facilidade por causa de uma otimização da solubilidade gástrica e permeabilidade intestinal (ADEOYE et al., 2017; SHERJE et al., 2017).

Comumente os OE são complexados a ciclodextrina, pois eles apresentam alta afinidade entre si, já que o interior da molécula de CD tem caráter apolar, facilitando a ligação entre eles, além disso, a complexação garante uma durabilidade das propriedades medicinais presentes nos óleos essenciais, pois evita que haja volatilização (SHERJE et al., 2017). A espécie *Eugenia brejoensis* teve seu OE complexado em β -CD para testes de citotoxicidade e teve seu efeito potencializado (DE SANTANA et al., 2020), já a *Vanillosmopsis arborea* se destacou por usar o óleo complexado em β -CD para atividade analgésica orofacial e também teve seu efeito potencializado (LEITE et al., 2019). Dessa forma, é possível compreender que a complexação favorece a potencialização dos efeitos biológicos da molécula hospede.

3.5. ALGRIZEA MINOR

O reino vegetal apresenta uma grande biodiversidade de espécie, onde há um vasto repertório de moléculas bioativas. A família *Myrtaceae* se destaca no cenário brasileiro, devido a sua ampla distribuição nos variados biomas, abrangendo 29 gêneros e cerca de 1000 espécies taxonomicamente catalogada, dos quais 4 gêneros e 857 espécies são endêmicas do território brasileiro (Flora do Brasil 2020).

Os gêneros endêmicos do Brasil proporcionam uma fonte importante de economia para a população local. Taxonomicamente semelhantes, as espécies dessa família são muito parecidas havendo a necessidade de serem investigadas intimamente para que seja possível uma classificação mais precisa (Figura 7) (STADNIK et al., 2016). Dessa forma, o uso de caracteres diagnósticos crípticos, como o número de lóculos e óculos no ovário, número de estames no botão floral e o tipo de testa da semente e embrião, fatores estes que dificultam a compreensão taxonômica e a delimitação específica (GERAIS; ARANTES; MONTEIRO, 2002).

Diversas espécies da família *Myrtaceae* estão relacionadas com a capacidade de promover um bem-estar frente a processos patológicos, sendo um atrativo para a formulação de drogas fitoterápicas, como antiparasitário (DE SOUZA et al., 2017), proteção intestinal (LU et al., 2020), antinociceptivo (DE SOUZA SAMPAIO et al., 2020), antifúngico (DOS SANTOS et al., 2018), anti-inflamatório (GOLDONI et al., 2019), anti-hipertensivo (FIDELIS-DE-OLIVEIRA et al., 2020).



Figura 7 - Espécies do gênero Myrtaceae. Fonte: STADNIK; OLIVEIRA; ROQUE, 2016

Catalogada pela primeira vez em 2006 o gênero *Algrizea* spp. pertencente à família das Myrtaceae e foi identificado inicialmente na Chapada da Diamantina/BA, no estado da Bahia, mas é possível encontrar essa espécie nos estados que compreendem o bioma da Caatinga, Cerrado e Mata atlântica (SOBRAL et al., 2010). Inicialmente este novo gênero foi catalogado como *Psidium* L., porém devido às características anatômicas como flores pentâmeras e ovário multiovulado os taxonomistas criaram o gênero *Algrizea* spp., e com isso foi possível diferenciar este gênero de planta dos demais dentro da família das Myrtaceae (PROENÇA et al., 2006).

Devido a estudos mais aprofundados e avanço das tecnologias moleculares, estudos taxonômicos se tornaram mais promissores por causa da alta precisão em identificar novas espécies. Devido a estas técnicas, a *Algrizea minor* foi catalogada pela primeira vez, ela se diferencia de outras espécies por apresentar folhas com pecíolos de 1 a 2 mm e lâminas de 8–19 × 4,5–12 mm, com 6–8 veias laterais pouco visíveis para invisível em ambos os lados; principais eixos de inflorescências para 3–15 mm; botões florais de 2,2 a 3 mm; embrião com pontos glandulares côncavos (SOBRAL et al., 2010).

O óleo essencial da *Algrizea minor* foi caracterizada pela primeira vez por OLIVEIRA DE VERAS et al. (2020) e se destacou pela alta concentração de β -Pineno, um composto monoterpênico, de caráter volátil e oleoso (BIERKANDT et al., 2020). Este monoterpêno é encontrado em associação com o seu isômero α -Pineno, e já foram relatados fazendo parte da composição do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) (PEREIRA et al., 2017), *Petroselinum crispum* (Salsa) (ZHANG et al., 2006) e *Achillea millefolium* (Alfavaca) (FARHADI et al., 2020). As atividades biológicas associadas ao β -Pineno incluem efeito analgésico, antimicrobiano, antioxidante, antidepressivo, contudo seu potencial gastroprotetor ainda não foi descrita. Além disso, pode ser encontrados em perfumes finos, xampus, sabonetes e produtos de higiene, bem como em produtos não cosméticos como produtos de limpeza e detergentes (JOSÉ et al., 2013).

3.6. INFLAMAÇÃO GÁSTRICA

A gastrite é uma doença inflamatória que pode incluir a úlcera péptica gástrica e duodenal, com alta incidência no mundo e afeta cerca de 5 a 10% da população geral, a sua presença acarreta a uma alta morbidade e mortalidade. A gastrite, além de causar dificuldades na vida social devido aos episódios dolorosos, ela pode estar associada a complicações graves e potencialmente fatais, como sangramento e / ou perfuração, que podem exigir cirurgia (CARLOTTO et al., 2019).

As úlceras se desenvolvem quando há um desequilíbrio entre os fatores de proteção e os agentes agressivos. Os fatores protetores contam com a presença de bicarbonato, camada de muco, fluxo sanguíneo da mucosa, presença de prostaglandinas, sistema antioxidante, compostos sulfidrílicos, óxido nítrico e proliferação celular, já os fatores agressivos são estabelecidos como a infecção por *Helicobacter pylori*, presença de ácido clorídrico em excesso, pepsinas, ácidos biliares, uso contínuo de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), processo de isquemia e hipóxia, assim como o hábito do tabagismo e alcoolismo. Esse desequilíbrio ocorre na superfície luminal das células epitelial estomacal (PEREIRA BARBOSA et al., 2019) (Figura 8).

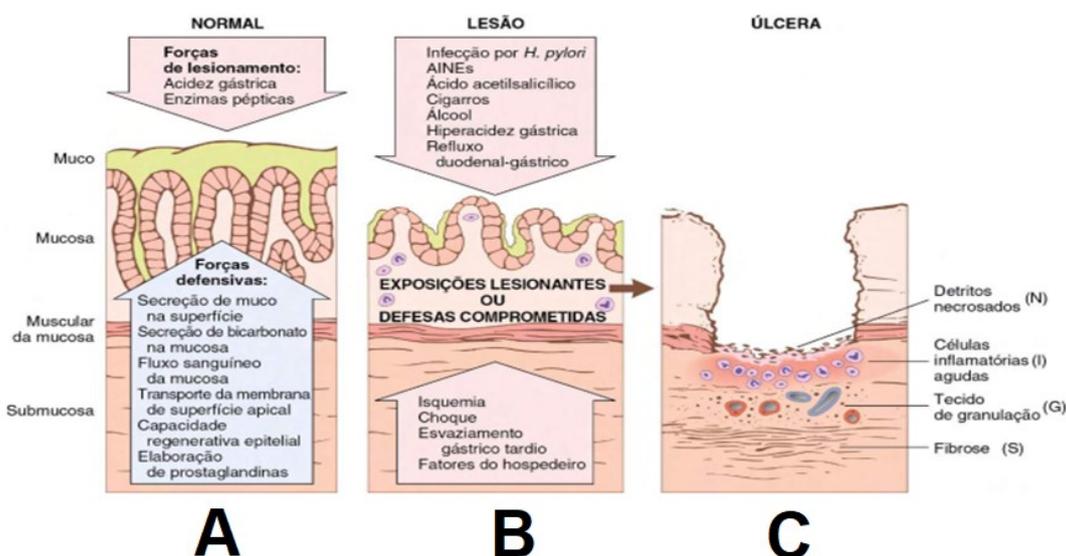


Figura 8 - Ilustração de um processo de lesão gástrica. (A) Tecido estomacal sadio devido ao equilíbrio entre os agentes agressores e os de defesa; (B) Início do processo de dano ao tecido gástrico pelo desequilíbrio; (C) Lesão gástrica inflamatória já estabelecida. Fonte: ABUL K. ABBAS, 2015

Dentre os mecanismos mais importantes de dano gástrico há a inibição de ciclooxigenases-1 (COX-1), causado principalmente pelos AINES e estresse, onde a ausência da COX-1 vai inibir a síntese de prostaglandinas, que por sua vez teria a função de estimular a liberação de bicarbonato, favorecer o fluxo sanguíneo local, inibir a adesão e ativação de neutrófilos e aumentar a resistência das células epiteliais contra potenciais danos por citotoxinas (MARTINS et al., 2014; SOMENSI et al., 2017). Além disso, pode haver um aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias, interleucina-1 beta (IL-1 β), IL-8, e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que vão afetar diretamente a secreção de muco, assim como a concentração de HCO₃⁻, bem como vai afetar a secreção ácida, por atuarem em células capazes de aumentarem a secreção ácida (ARUNACHALAM et al., 2019; DE LACERDA NETO et al., 2017).

O tratamento inclui uma redução na eliminação do sulco gástrico e fortalecimento das barreiras protetoras. Os medicamentos mais utilizados incluem os antiácidos, inibidores da bomba de prótons e antagonistas do receptor α da histamina H₂ (MALFERTHEINER; CHAN; MCCOLL, 2009). O uso de antibióticos também é comum quando o objetivo é interromper a infecção por *H. pylori*. Contudo, são relatados que esses medicamentos apresentam diversos efeitos colaterais indesejáveis, como trombocitopenia, nefrite intersticial aguda, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, anafilaxia, ginecomastia e impotência. Além disso, alguns deles são caros, que restringe seu uso por populações que não podem arcar com os custos do tratamento (COELHO et al., 2020; SANTIN et al., 2010).

Os OE se destacam por ser uma alternativa terapêutica menos agressiva, e por sua vez tem se mostrado um potente agente de proteção gástrica, e isso pode envolver a produção de compostos benéficos e/ou pode envolver a inibição os mecanismos danos ao tecido gástrico. O OE da *Vanillosmopsis arborea* apresenta uma potente atividade gastroprotetora, envolvendo os mecanismos opióide, ativação do canal K⁺_{ATP} e óxido nítrico (DE O. LEITE et al., 2009). Além desse, o *Cymbopogon citratus* também atua como gastroprotetor, porém pela via dos receptores α_2 (FERNANDES et al., 2012). A *Croton rhamnifolioides* por sua vez, além de agir através da modulação de receptores opioides e óxido nítrico, também atua favorecendo a liberação de muco e de bicarbonato, garantindo uma proteção aos danos gástricos (VIDAL et al., 2017).

Tendo em vista que as ulcerações gástricas acarretam em uma lesão inflamatória, é passível de conhecimento, primeiramente, que a inflamação é um processo fisiológico que ocorre em um tecido vivo e vascularizado em resposta a um estímulo prejudicial, como infecções, desejos autoimunes, trauma ou presença de toxinas (TAVARES et al., 2020). Durante o processo inflamatório, a área afetada apresenta sinais clássicos, chamados de sinais cardinais de inflamação, que são: dor, formação de edema, rubor, calor e perda de função. Esses sinais são decorrentes de diversos processos vasculares e celulares mediados por diversos produtos químicos que modulam o processo inflamatório (MEDZHITOV, 2010).

O início da inflamação é dado quando os macrófagos e células dendríticas (células apresentadoras de antígenos) reconhecem os agentes estranhos ao organismo a partir dos antígenos. Estes, por sua vez, se ligam a receptores presentes nas células dendríticas, e uma vez que esses receptores reconhecem os antígenos, o fator nuclear κ B (NF- κ B) próprio da célula é ativado e irá migrar para o núcleo e ativar vários genes responsáveis pela resposta inflamatória (GONZÁLEZ-RAMOS; DEFRÈRE; DEVOTO, 2012; MITCHELL; CARMODY, 2018; NEWTON; DIXIT, 2012).

Uma vez que o processo de inflamatório do início, as células apresentadoras de antígeno irão liberar moléculas como TNF- α e as IL-1, IL-6, essas citocinas irão posteriormente induzir o aumento de permeabilidade vascular devido ao vazamento de líquido exsudado. Esse exsudato é rico em componentes de quatro cascatas metabólicas: coagulação, fibrinolítica, sistema complemento e sistema cinético (MEDZHITOV, 2008; TAVARES et al., 2020). Além disso, o TNF- α e a IL-1 promovem a expressão de moléculas de adesão celular nas células endoteliais presentes nos capilares, que são responsáveis por promover a migração de neutrófilos para a área lesada (KUBALA et al., 2010).

A bradicinina é um dos produtos finais da cascata inflamatória e é responsável por aumentar a permeabilidade vascular, estimulando o óxido nítrico e os eicosanoides, que por sua vez, são responsáveis por ativar uma segunda via anti-inflamatória, que por não possuir precursores formados intracelularmente, apresenta uma resposta tardia (MUSCELLA et al., 2020; RICCIARDOLO et al., 2018). Os eicosanoides são produzidos a partir do seu precursor, o ácido araquidônico, que é

um fosfolípido presente nas membranas celulares na sua forma estereificada, e uma vez que o sistema inflamatório é ativado a enzima fosfolipase A2 induz a sua síntese. Após ser ativado, o ácido araquidônico produz vários produtos eicosanóides com as prostaglandinas PGD₂, PGE₂, PGI₂ a partir da ação enzimática das cicloxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2), e os leucotrienos LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄, oriundos da ação enzimática da 5-lipoxigenase (5-LOX) (MUSCELLA et al., 2020; RICCIARDOLO et al., 2018).

Ainda nessa perspectiva, é importante destacar a presença de estímulos dolorosos no processo inflamatório da gastrite, já que a dor é um dos sintomas da inflamação, e é ela a responsável pela redução da qualidade de vida de quem convive com as úlceras pépticas estomacais (YARUSHKINA; BOGDANOV; FILARETOVA, 2006). A dor pode ser caracterizada em 3 tipos, a dor nociceptivas, neuropáticas ou mistas, com base na sua fisiopatologia, contudo a dor nociceptiva se subdivide em duas, a dor somática (superficial) e / ou visceral (interno). A dor nociceptiva ocorre através de estímulos nocivos como o estímulo mecânico, o químico e o térmico, onde estes irão ativar os canais nociceptores e transmitir essa percepção ao sistema nervoso central (DAS, 2015; LEPPERT et al., 2016).

De início ocorre à transdução que é responsável pelo sinal inicial da dor, ele é responsável por identificar substâncias sensibilizadoras de nociceptores, como bradicininas, histaminas, prostaglandinas, serotoninas e a substância P, que são liberadas pelas células lesadas, essas substâncias vão estimular a excitação elétrica dos neurônios a partir de um potencial de ação (DUBIN; PATAPOUTIAN, 2010). Em seguida ocorre a transmissão, onde esse estímulo precisa ser propagado pelas fibras nervosas até que essa informação dolorosa chegue ao sistema nervoso central, para que ele responda adequadamente a injúria, as principais fibras envolvidas nesse processo são as fibras A delta e C, as fibras A delta são fibras de condução rápida e responsáveis pela dor aguda imediata, enquanto as fibras C são pequenas e responsáveis por transmitir a dor constante e maçante desempenham um papel importante no processo de transmissão (DAS, 2015).

Na sequência ocorre à percepção, que é uma interpretação dos estímulos mandados pelas células afetadas, onde o cérebro traduz os sinais eletroquímicos enviados via neurônios e emite uma resposta. Por fim, há uma modulação dos

estímulos, assim é possível amenizar a percepção dolorosa por causa da liberação de serotonina (5HT), opióides endógenos (por exemplo, encefalinas, endorfinas) e norepinefrina pela medula espinhal, contudo é importante destacar que isso só é possível se o estímulo for pequeno, porém se for uma injúria celular de grandes proporções é indicada a administração de produtos exógenos que diminua a sensação de dor (RODRIGUEZ, 2015; RUSSO; SUNDARAMURTHI, 2019).

A dor neuropática, que pode ser aguda ou crônica, consiste, inicialmente, por lesões do sistema nervoso ou disfunções do sistema nervoso às vezes sustentado por vários mecanismos, onde as fibras nervosas danificadas começam a falhar e enviar os sinais errados de dor para vários centros de percepção (AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010). É sabido que a partir da ativação glial, há liberação de citocinas pró-inflamatórias e ativação diferencial dos receptores de dor. Dessa forma, vai haver liberação de IL-1 β e o TNF- α , pelos astrócitos e microglia, isso vai desencadear o aumento da transmissão glutamatérgica e desinibindo interneurônios GABAérgicos na medula espinhal, que por sua vez, vai aumentar a transmissão sináptica espinhal causando sensibilização à dor neuropática (SILVA et al., 2015). Principais exemplos de dor neuropática incluem dor relacionada ao herpes (herpes zoster agudo), dor nas costas, acidente vascular cerebral, esclerose múltipla, certos tipos de dores de cabeça, entre outros (AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL BOTÂNICO

Folhas de *A. minor* foram coletadas na cidade de Brejo da Madre de Deus, coordenadas (8 ° 12'27.0 "S 36 ° 23'43.8" W), no estado de Pernambuco, Brasil, em março de 2019 pela equipe de pesquisadores da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. A área de coleta está sob o domínio da Caatinga. O material utilizado neste trabalho foi depositado no Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho (PEUFR), com número de registro PEUFR35193.

4.2. EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

As folhas *A. minor* passaram por separação mecânica, retirando as que apresentavam marcas de pragas ou microrganismos, em seguida, foram submetidas à lavagem e trituração em moinho de facas.

O processo de extração do óleo essencial foi realizado por arraste a vapor de água aquecida por 5 horas, utilizando-se 300 g do material triturado, sendo adicionado ao balão de hidrodestilação com água na proporção de 1:10 (m/v). O óleo essencial foi obtido através da sua condensação juntamente com o vapor de água no condensador. O excesso de água foi retirado pela passagem do óleo essencial através de um filtro contendo agente secante (Na_2SO_4)

4.3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo essencial da *A. minor* (OEAm) foi analisado em Cromatografia Gasosa Agilent Technologies (Palo Alto, CA, EUA) série 5975C acoplada à espectrometria de massas CG / EM, com sistema de detecção de quadrupolo equipado com coluna apolar DB-5 9Agilent J & W, 60 m x 0,25 mm x 0,25 μm .

Alíquotas 1 μL de split 1:50 do óleo essencial com concentrações variando de 2000 a 3000 ppm, foram injetadas na cromatografia gasosa. Subsequentemente, 1 μL de separação (1:50) da mistura de padrões de hidrocarbonetos: C9-C30 foi injetado. A mistura de óleos essenciais e a mistura de padrões de hidrocarbonetos, 1 μL (0,2 μL de alcanos e 0,8 μL do óleo) foram então injetados sob o modo sem espumas. A temperatura do CG foi mantida a 60 °C durante 3 min, depois aumentando de 2,5 °C min^{-1} para 240 °C e mantida durante 10 min a esta temperatura. O fluxo de hélio foi mantido a uma pressão constante de 100 kPa. A interface MS foi estabelecida em 200 °C e o injetor a 250 °C e os espectros de massa registrados a 70 eV (no modo EI) com uma taxa de varredura de 0,5 varreduras de m/z 20-350. A partir da análise dos tempos de retenção dos compostos presentes na amostra de óleo essencial, dos padrões de hidrocarbonetos e da combinação do óleo essencial com a mistura padrão, calculou-se o Índice de Retenção para cada componente do óleo.

Os compostos foram identificados comparando seus espectros de massa MassFinder 4, NIST08 e Wiley Registry TM 9th Edition, integrados ao software Agilent MSD Productivity ChemStation (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA) e Retention Index aos de padrões autênticos disponíveis no Adams As amostras de óleo foram quantificadas em cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-DIC), sob as mesmas condições de CG-EM, em triplicata para cálculo do desvio padrão da porcentagem de área de pico de cada composto no cromatograma para determinar a proporção dos compostos no óleo.

4.4. PREPARAÇÃO DO COMPLEXO DE INCLUSÃO

A preparação do complexo de inclusão do óleo essencial de *A. minor* em β -ciclodextrina (β -CD/OEAm) foi realizada de acordo com a metodologia descrita por MARRETO et al. (2008) e COIMBRA et al. (2019), onde foi utilizado óleo essencial: β -ciclodextrina (1:1) (m/m). Os componentes foram pesados de acordo com sua massa molar, e no caso do óleo que apresenta uma mistura de compostos utilizou-se da massa molar do majoritário, que no caso foi o β -Pineno. Imediatamente após a pesagem, os compostos foram adicionados a um agitador magnético juntamente com uma solução de água e etanol (1:3) (v/v) em quantidade

suficiente para formar uma pasta. A mistura foi deixada em agitador magnético por 24 horas, intermitentes. As amostras foram congeladas a uma temperatura de $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e posteriormente liofilizadas a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $1,09\text{ Pa}$, até que toda a água fosse retirada. Após o procedimento o produto liofilizado foi mantido em temperatura ambiente.

Além disso, para destacar que o processo de inclusão necessita de técnicas específicas, foi preparada uma Mistura Física (MF), que consistiu em juntar em um almofariz o óleo essencial e a β -ciclodextrina na proporção 1:1 (m/m) de acordo com suas massas molares, os quais foram misturados manualmente. Em seguida, a MF foi armazenada em recipiente de vidro e mantida em dessecador.

4.5. CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXADO

4.5.1. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) do óleo essencial de *A. minor*, da mistura física e o complexo de inclusão (β -CD/OEAm) foram coletados usando um espectrofotômetro Nicolet 550-II FT-IR (Nicolet, EUA) com 32 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} no departamento de química - UFPE. As amostras Liofilizadas (MF e β -CD/OEAm) foram envolvidas em pó de brometo de potássio (Kbr) em uma proporção de massa 1:100. Logo após, foram esmagados e prensados em discos com 8mm de diâmetro. Uma gota da amostra líquida (OEAm) foi uniformemente espalhada em um disco laminado com brometo de potássio (Kbr), e posteriormente prensados. Os espectros de FT-IR foram analisados pelo software (OMNIC 5.2) (Gomes, et al., 2014; Wang et al., 2011).

4.5.2. Análises Térmicas

Foram realizadas as análises de Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG). Ambas utilizaram um analisador térmico simultâneo (NETZSCH STA 449 F3 Jupiter), onde 2mg da amostra foram adicionados a uma

cuba de alumínio e posteriormente submetidos a uma faixa de temperatura (40° a 400°C) em atmosfera dinâmica de nitrogênio (50mL/min) e aquecimento de 10 °C por minuto (Van Hees et al., 2002).

4.6. MODELO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 220 camundongos *Swiss albino* machos ou fêmeas, a depender do teste, com 10-12 semanas de idade, pesando entre 30 a 35g, provenientes do biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE. Os animais foram mantidos no biotério de experimentação animal do Departamento de Bioquímica da UFPE, em temperatura (22 ± 2 °C) e luminosidade controladas (12 h de claro e 12 h de escuro), com água e ração *ad libitum*. Após uma semana de adaptação os animais foram divididos ao acaso de acordo com as avaliações a serem realizadas em seus respectivos grupos. O presente trabalho foi submetido ao comitê de ética da Universidade Federal de Pernambuco com processo de número 0053/2020

4.7. ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA POR ÁCIDO ACÉTICO (0,8%)

A avaliação da atividade antinociceptiva foi realizada de acordo com o método de dor abdominal (Radulović et al., 2015). A nocicepção foi induzida pela administração de ácido acético a 0,8% pela via intraperitoneal (i.p.). Como tratamento, foram administrados por via oral (v.o) Veículo (solução salina 0,9%), indometacina (20 mg / kg), OEAm (50, 100 e 200 mg / kg), β -CD/OEAm (50, 100 e 200 mg / kg) e β -CD vazia, 60 minutos antes da injeção de ácido acético. Após administração do ácido acético, o número de contorções abdominais foi registrado entre o tempo entre 5-15 minutos.

4.8. NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA E MECANISMO DE AÇÃO ENVOLVIDO

Nesse modelo, foi utilizado um protocolo experimental semelhante ao descrito por Oliveira de Veras et al., (2020) . A atividade nociceptiva também foi realizada por

indução de dor por administração intraplantar (i.pl.) de formalina a 2,5%. Como tratamento foi administrado Veículo (solução salina), morfina (10 mg / kg), indometacina (20 mg / kg), OEAm (50, 100 e 200 mg / kg) e β -CD/OEAm (50, 100 e 200 mg / kg) e β -CD vazia foram administrados por via oral (v.o), 1 hora antes da injeção de formalina. Observou-se que os animais expressavam a dor pela ação de lambe a pata que receberam o agente químico, assim a nocicepção foi considerada com base no tempo em segundos que o camundongo lambia a pata por 0 a 5 minutos (fase neurogênica) e 15 a 30 minutos (fase inflamatória).

Com o objetivo ainda de avaliar por qual via a ação nociceptiva ocorreu, foi administrado naloxona (5 mg / kg, v.o) que atua como um antagonista opioide não seletivo. Os testes deram-se através da administração isolada da naloxona, assim como ele associado à morfina, ao óleo livre e ao complexado. Após 30 minutos, os animais foram submetidos ao teste de formalina (como descrito) e o tempo de lambe registrado e computado para análise (Tjølsen et al., 1992).

4.9. ATIVIDADE GASTROPROTETORA

O experimento foi realizado de acordo com o método descrito Robert et al. (1979) com modificações. Resumidamente, camundongos fêmeas em jejum por 24 h com acesso livre à água antes do experimento, foram distribuídos aleatoriamente em oito grupos, sendo: controle negativo (solução salina, 0,9%), controle positivo (carbenoxolona, 100 mg / kg; v.o.), OEAm (50, 100 e 200 mg/kg; v.o.), β -CD/OEAm (50, 100 e 200 mg/kg; v.o.) e β -CD sozinha. Uma hora depois, todos os camundongos foram tratados com 1 mL / 150 g de animal com etanol absoluto via oral, para indução das lesões gástricas. Uma hora após a aplicação do etanol, os camundongos foram sacrificados. Os estômagos foram removidos, lavados com tampão PBS gelado (pH = 7,4) e abertos ao longo da maior curvatura, pressionados entre as placas de vidro, para melhor visualização e fotografados para análise das lesões. As extensões das lesões foram medidas em mm² e foi expressa em porcentagem (%) de ulceração em relação à área total do corpus usando o software ImageJ (Versão 1.45). Em seguida, uma parte dos estômagos passou por fixação

em formol para avaliação histopatológica, e outra parte por maceração para dosagem de citocinas.

4.10. VIAS DE AÇÃO DA GASTROPROTEÇÃO

4.10.1. **Receptores opióides**

A avaliação da participação de receptores opióides na gastroproteção foi realizada de acordo com Cho et al. (2003) utilizando três grupos experimentais, sendo tratados com 2 mg/kg, i.p. naloxona (antagonista dos receptores opióides), 30 minutos antes da administração do OEAm ou β -CD/OEAm 200 mg/kg; v.o. ou solução salina 0,9%. Uma hora depois, todos os camundongos foram tratados com 1 mL / 150 g de animal com etanol absoluto via oral, para indução das lesões gástricas. Uma hora após a aplicação do etanol, os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical. Os estômagos foram removidos, lavados com tampão PBS gelado (pH = 7,4) e abertos ao longo da maior curvatura, pressionados entre as placas de vidro, para melhor visualização e fotografados para análise das lesões. As extensões das lesões foram medidas em mm² e foi expressa em porcentagem (%) de ulceração em relação à área total do corpus usando o software ImageJ (Versão 1.45).

4.10.2. **Canais K⁺ dependentes de ATP (K⁺ - ATP)**

A avaliação foi realizada de acordo com Rahgozar et al. (2001). Três grupos de animais foram tratados com 10 mg / kg, i.p. glibenclamida (bloqueador seletivo dos canais de potássio) 30 minutos antes da administração do OEAm ou β -CD/OEAm 200 mg/kg; v.o. ou solução salina 0,9%. Uma hora depois, todos os camundongos foram tratados com 1 mL / 150 g de animal com etanol absoluto via oral, para indução das lesões gástricas. Uma hora após a aplicação do etanol, os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical. Os estômagos foram removidos, lavados com tampão PBS gelado (pH = 7,4) e abertos ao longo da maior curvatura, pressionados entre as placas de vidro, para melhor visualização e fotografados para análise das lesões. As extensões das lesões foram medidas em

mm² e foi expressa em porcentagem (%) de ulceração em relação à área total do corpus usando o software ImageJ (Versão 1.45).

4.10.3. Óxido nítrico (NO)

A avaliação foi realizada de acordo com protocolo descrito por Matsuda e Yoshikawa et al. (1999). Resumidamente, os animais foram tratados com 10 mg / kg, i.p. de éster metílico de L-NG-nitro arginina (L-NAME) (inibidor inespecífico da enzima NO sintetase) 30 minutos antes da administração do Ácido OEAm ou β -CD/OEAm 200 mg/kg; v.o. ou solução salina 0,9%. Uma hora depois, todos os camundongos foram tratados com 1 mL / 150 g de animal com etanol absoluto via oral, para indução das lesões gástricas. Uma hora após a aplicação do etanol, os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical. Os estômagos foram removidos, lavados com tampão PBS gelado (pH = 7,4) e abertos ao longo da maior curvatura, pressionados entre as placas de vidro, para melhor visualização e fotografados para análise das lesões. As extensões das lesões foram medidas em mm² e foi expressa em porcentagem (%) de ulceração em relação à área total do corpus usando o software ImageJ (Versão 1.45).

4.10.4. Compostos sulfidrílicos (-SH)

A participação dos compostos sulfidril associados ao efeito gastroprotetor foi realizado de acordo com Matsuda e Yoshikawa et al. (1999). O composto N-etilmaleimida (NEM) 10 mg / kg, i.p. (bloqueador de compostos sulfidril) foram administrado em três grupos de animais 30 minutos antes da administração do OEAm ou β -CD/OEAm 200 mg/kg; v.o ou solução salina 0,9%. Uma hora depois, todos os camundongos foram tratados com 1 mL / 150 g de animal com etanol absoluto via oral, para indução das lesões gástricas. Uma hora após a aplicação do etanol, os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical. Os estômagos foram removidos, lavados com tampão PBS gelado (pH = 7,4) e abertos ao longo da maior curvatura, pressionados entre as placas de vidro, para melhor

visualização e fotografados para análise das lesões. As extensões das lesões foram medidas em mm² e foi expressa em porcentagem (%) de ulceração em relação à área total do corpus usando o software ImageJ (Versão 1.45).

4.10.5. Síntese de PGE₂

A avaliação foram realizada de acordo com Peskar, Ehrlich e Peskar (2002). Resumidamente, os animais (3 grupos) foram tratados sendo tratados com 10 mg / kg, i.p. indometacina (inibidor anti-inflamatório não esteróide da síntese PGE₂) 30 minutos antes da administração do OEAm ou β -CD/OEAm 200 mg/kg; v.o ou solução salina 0,9%. Uma hora depois, todos os camundongos foram tratados com 1 mL /150 g de animal com etanol absoluto via oral, para indução das lesões gástricas. Uma hora após a aplicação do etanol, os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical. Os estômagos foram removidos, lavados com tampão PBS gelado (pH = 7,4) e abertos ao longo da maior curvatura, pressionados entre as placas de vidro, para melhor visualização e fotografados para análise das lesões. As extensões das lesões foram medidas em mm² e foi expressa em porcentagem (%) de ulceração em relação à área total do corpus usando o software ImageJ (Versão 1.45).

4.11. TESTE DE BARREIRA FÍSICA

O teste de barreira física foi adaptado de DE LACERDA NETO et al., (2017). Os animais foram tratados com solução salina (0,9% v.o.), OEAm (200 mg/kg; v.o. e i.p) e β -CD/OEAm (200 mg/kg; v.o. e i.p). Uma hora depois, todos os camundongos foram tratados com 1 mL / 150 g de animal com etanol absoluto via oral, para indução das lesões gástricas. Uma hora após a aplicação do etanol, os camundongos foram sacrificados. Os estômagos foram removidos, lavados com tampão PBS gelado (pH = 7,4) e abertos ao longo da maior curvatura, pressionados entre as placas de vidro, para melhor visualização e fotografados para análise das lesões. As extensões das lesões foram medidas em mm² e foi expressa em porcentagem (%) de ulceração em relação à área total do corpus usando o software ImageJ (Versão 1.45).

4.12. DOSAGEM DE CITOCINAS

As amostras de tecido gástrico expostas ao etanol absoluto foram coletadas e homogeneizadas em solução salina tamponada com fosfato gelado (pH 7,4). As amostras homogeneizadas foram centrifugadas a 20.000 x g por 20 min em uma centrífuga refrigerada a 4 ° C. Os sobrenadantes foram coletados e congelados a - 80 ° C até o ensaio, de acordo com as metodologias adaptadas de Salaga et al. (2017) e DE VERAS; DA SILVA; CABRAL RIBEIRO, (2021). Os níveis do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucinas 1 (IL-1 β) foram mensurados utilizando o Kit ELISA, Alta Sensibilidade em ELISA, Thermo Fisher (Waltham, EUA) de acordo com as instruções do fabricante, sendo os resultados expressos em pg / g de tecido.

4.13. DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS OXIDATIVOS

Amostras de tecido estomacal expostas ao etanol foram coletadas e homogeneizadas em tampão fosfato 200 mM (pH 6,5). O homogenato obtido foi utilizado para determinar os níveis reduzidos de glutathiona (GSH) e malondialdeído (MDA). Todos os ensaios foram realizados segundo Zhou et al. (2020).

4.14. AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Após a dissecação do camundongo retirou-se o estômago que foi seccionado na porção maior, fixados em formalina tamponada (solução de formol a 10%) durante 24 horas. Em seguida, passaram pela desidratação com séries crescentes de álcool (70% - 100%), diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina. As inclusões emblocadas, foram seccionadas (3 μ m de espessura) em micrótomo e submetidas à coloração hematoxilina-eosina e observadas sob microscópio óptico para processamento histopatológico (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

4.15. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados dos experimentos *in vivo* foram expressos em média \pm desvio padrão e analisados em software GraphPad Prism, USA. Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional seguido por Teste de Tuckey e Bonferroni.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E RENDIMENTO

O óleo essencial obtido por hidrodestilação (HD) das folhas de *A. minor* obteve um rendimento de 0,57% (p / p), um bom rendimento fazendo uma análise comparativa com a extração de óleos de outras espécies da família Myrtaceae como a *Myrcia eximia* DC. que obteve um rendimento de 0,36% (FERREIRA et al., 2020) e a espécie *Campomanesia adamantium*, que conseguiu um rendimento de 0,34% (ALVES et al., 2020), ambos pelo processo de HD. A identificação dos constituintes químicos do OEAm foi realizada a partir da injeção do material no GC-EM e GC-DIC e foi feita uma análise comparativa dos índices de retenção e dos espectros de massas obtidos com os descritos no banco de dados.

5.2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo obteve 95,9% dos seus constituintes químicos identificados, sendo obtida a identidade de 15 compostos, pertencente à classe dos monoterpenos (75,5%) e sesquiterpenos (19,39). Os principais constituintes presentes no óleo essencial de *A. minor* foram β -Pinenos (66,99 \pm 0,03%), α -Pinenos (6,57 \pm 0,26%), Bicyclogermacreno (6,26 \pm 0,42%), Germacreno D (5,97 \pm 0,19%), (E)-Cariofileno (3,76 \pm 0,31%) e α -Humuleno (1,42 \pm 0,01%) (Tabela 1).

No.	Compostos	RI Cal	RI Lit	EOAm	
				(%)	S.D.
1	(E)-cariofileno	1417	1417	3.76	0.31
2	Aromadendrene	1439	1439	0.99	0.04

3	α-Humuleno	1452	1452	1.42	0.01
4	Allo-aromadendrene	1458	1458	1.31	0.03
5	Germacrene-D	1480	1480	5.97	0.19
6	Biciclogermacrene	1500	1500	6.26	0.42
7	δ -Cadinene	1522	1522	0.21	0.06
8	Spathulenol	1577	1577	0.13	0.06
9	α -Thujene	929	924	0.39	0.02
10	α-Pineno	936	932	6.57	0.26
11	β-Pineno	977	974	66.99	0.03
12	Mirceno	993	988	0.44	0.05
13	Limoneno	1030	1024	1.11	0.03
14	Terpinen-4-ol	1179	1178	0.01	0.00
15	Guaiol	1600	1600	0.34	0.03
TOTAL (%)				95.9	
Monoterpenos de hidrocarbonetos (MH)				75.50	
Monoterpenos oxigenados (MO)				0.01	
Sesquiterpenos de hidrocarbonetos (SH)				19.39	
Sesquiterpenos oxigenados (SO)				0.34	
TOTAL (%)				95.9	

Tabela 1: Constituintes químicos (%) identificados no óleo essencial das folhas de *Algrizea minor*.: ^aRlcal = Índice de retenção experimental; ^bRllit = Índice de retenção descrito na literatura (ADAMS, 2007).

O β -Pineno e o α -Pineno foram os compostos majoritários na mistura terpenóide do OEAm, compostos isômeros estruturais que têm dois enantiômeros (+) e (-) e fazem parte da classe dos monoterpenos, são encontrados em abundância em árvores coníferas, em especial os pinheiros (SALEHI et al., 2019). Os pinenos apresentaram em trabalhos anteriores atividade biológica antidepressiva (AKUTSU et al., 2003), mostrando interação com a via serotoninérgica por meio de receptores 5-HT1A pós-sinápticos, sistema adrenérgico através do receptor beta (FELIPE et al., 2019) e sistemas dopaminérgicos por meio dos receptores D1 (GUZMÁN-GUTIÉRREZ et al., 2015; ZAMYAD et al., 2019). Além disso, os monoterpenoides apresentaram atividades antiproliferativas potentes contra linhagens de células cancerosas humanas (câncer de cólon, carcinoma cervical

humano, hepatocarcinoma humano, melanoma, carcinoma de pulmão) (MATSUO et al., 2011; Z. et al., 2015; WANG et al., 2019), anticoagulantes (KISELEV et al., 2017; YANG et al., 2011), antimaláricos (BHARATE et al., 2008) e antibacteriano para *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Candida spp.* (LIAO et al., 2016), anti-inflamatório inibindo a via NF- κ B, a expressão de COX, e das citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α) (KIM et al., 2015; LI et al., 2016; RUFINO et al., 2014), gastroprotetor (BAE et al., 2012; MATTHEWS JUCÁ et al., 2011), inclusive combatendo infecção por *H. pylori* que está relacionada à maior intensificação da lesão gástrica (MEMARIANI et al., 2017), anti-espasmótico (RIYAZI et al., 2007) e antinociceptivo (LIAPI et al., 2007).

Como composto majoritário em espécies como *Baccharis coridifolia DC*, o Bicyclogermacreno exerceu atividade antibacteriana contra cepas multirresistentes de *P. aeruginosa* e *S. aureus* (FREITAS et al., 2020), *Eplingiella fruticosa* atuou como um potente analgésico, podendo controlar a dor causada pela fibromialgia, reduzindo a expressão da proteína Fos (anticorpo policlonal), responsável por ativar a dor central em regiões do SNC relacionadas ao controle da dor, combinadas com parâmetros comportamentais e moleculares (JOHN DE OLIVEIRA MELO et al., 2020), a *Verbesina macrophylla* se destacou por apresentar atividade anti-inflamatória reduzindo as citocinas TNF- α e IL-1 β , e proporcionou uma redução à atividade pirética como um do mecanismo da atuação da inflamação (DE VERAS et al., 2021). Contudo, não existem comprovações da atuação do Bicyclogermacreno de forma isolada, sendo assim, sugere-se que este terpeno atua em sinergia com o cariofileno, pois, a sua presença como constituinte dos óleos essenciais está relacionado à presença dos isômeros do cariofileno (ASCARI et al., 2019).

Atuando como precursor sesquiterpenoide de β -copaene, espécies de cadinene e muurolene, o Germacreno D é um elemento presente na composição de varias espécies vegetais de forma direta e indiretamente (YOSHIHARA; HIROSE, 1978). Além disso, a sua atividade biológica está presente frente à atuação contra espécies bacterianas responsáveis pela cárie dentária (SANTOS et al., 2016), ainda mais, é possível verificar atividade do germacreno D contra reativos de oxigênio combatendo o estresse oxidativo e promovendo uma atividade anti-inflamatória por inibir a ação da via da proteína quinase C, que resulta na supressão da elevação

das prostaglandinas e leucotrienos através da via do ácido araquidônico (ASCARI et al., 2019).

Presente na composição de óleos essenciais, o cariofileno é amplamente distribuído nas espécies vegetais, inclusive é encontrado em alimentos vegetais como orégano, canela, pimenta e cravo (SHARMA et al., 2016). O sesquiterpeno foi estudado quanto sua atividade antidepressiva, e foi evidenciada sua potente atividade, principalmente por reduzir a resposta inflamatória pela inibição da COX-2, causando aumento da expressão do receptor canabinóide CB2 no hipocampo, um neurotransmissor lipídico endocanabinóide que regula as respostas cognitivas e emocionais relacionadas ao estresse e ansiedade (HWANG et al., 2020).

Além disso, o sesquiterpeno apresentou um efeito cardioprotetor devido à inibição do estresse oxidativo mediado por radicais livres, danos ao DNA, apoptose e liberação conduzida por NF- κ B, ainda mais houve ativação de citocinas pró-inflamatórias, bem como a regulação negativa de mediadores inflamatórios (AL-TAEE et al., 2019). Segundo (NARARAK et al., 2020), o β -cariofileno conseguiu inibir a proliferação de mosquitos úteis na transmissão de arboviroses como a dengue e malária, sendo útil no efeito repelente. Além do mais, foi descoberto recentemente que o terpeno é capaz de regular positivamente a produção e liberação de testosterona em mulheres durante o período fértil a partir de uma estimulação olfatória, sendo considerado como um estimulante sexual natural (TARUMI; SHINOHARA, 2020).

O α -Humuleno é o componente principal do anti-inflamatório tópico Acheflan®, que tem como matéria prima o óleo essencial da *Cordia verbenacea* (Boraginaceae), e já produzido e comercializado por famosas indústrias farmacêuticas. Além disso, há um estudo realizado por (NGUYEN et al., 2017) que associa o humuleno com o aumento da proteção hepática a partir da inibição das atividades dos citocromos P4503A (CYP3A), responsável pela metabolização de cerca de 50% dos fármacos ingeridos. O (BENELLI et al., 2018) relata um potencial inseticida pela atividade ovicida e larvicida da *Helicoverpa armigera*, uma importante praga agrícola. Também foi evidenciada uma atividade inibitória na proliferação celular do hepatocarcinoma humano, além de induzir o mecanismo de apoptose pela *regulação* negativa da sinalização de proteína quinase b (Akt), uma proteína importante no

crescimento celular e sobrevivência, agindo como um protetor nas células oncóticas (CHEN et al., 2019).

5.3. CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO DE INCLUSÃO

5.3.1. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A aplicação da espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) é um método indispensável para a caracterização de compostos orgânicos, é uma técnica instrumental não destrutiva, simples, rápida e barata usada com sucesso na análise dos grupos funcionais próprio de cada composto puro bem como do complexo de inclusão formado (ONG et al., 2020; XU et al., 2019). Ela é caracterizada pelas variações de energia que a molécula produz associadas às transições vibracionais devido à absorção ou emissão de um fóton, que não é suficientemente energético para causar uma transição eletrônica (AGUIARA et al., 2014). Essa variação ocorre especialmente em espécies moleculares que apresentam alteração do momento de dipolo elétrico intrínseco como consequência de seu movimento vibracional ou rotacional, provocado pela absorção da energia radiante (PETIT; PUSKAR, 2018).

O FTIR é uma técnica analítica que é bastante empregada nas interações entre moléculas no estado sólido e consegue obter informações sobre a estrutura molecular, dinâmica e ambiente mediante comparação das bandas da molécula hóspede e do carreador, com a mistura física e o complexo, e com ela é possível identificar parâmetros como uma deformação nas ligações, podendo ser simétrico ou assimétrico, e a deformação no ângulo da molécula que se divide em tesoura, balanço, torção e abano (AGUIARA et al., 2014; BOUYANFIF et al., 2018).

Segundo os resultados obtidos na figura 9, a espectroscopia de infravermelho do óleo essencial mostra banda de absorção discreta em 3408 cm^{-1} (alongamento do grupo OH) relacionado aos terpenos oxigenados, uma absorção proeminente entre 2932 cm^{-1} e 2867 cm^{-1} (alongamento C-H da cadeia alifática) devido à presença dos radicais, 1708 (alongamento CO), 1635 cm^{-1} (alongamento C=C), 1455 (vibração de tesoura CH) devido à mudança angular simétrica, 1375 cm^{-1} (vibração assimétrica de CH₃), 642 cm^{-1} (vibração

dos alcenos), função química presente nos majoritários (RAKMAI et al., 2017, 2018). Essas vibrações no óleo essencial são ocasionadas devido à mistura de compostos, onde cada um possui sua estrutura química própria (LI; KONG; WU, 2013).

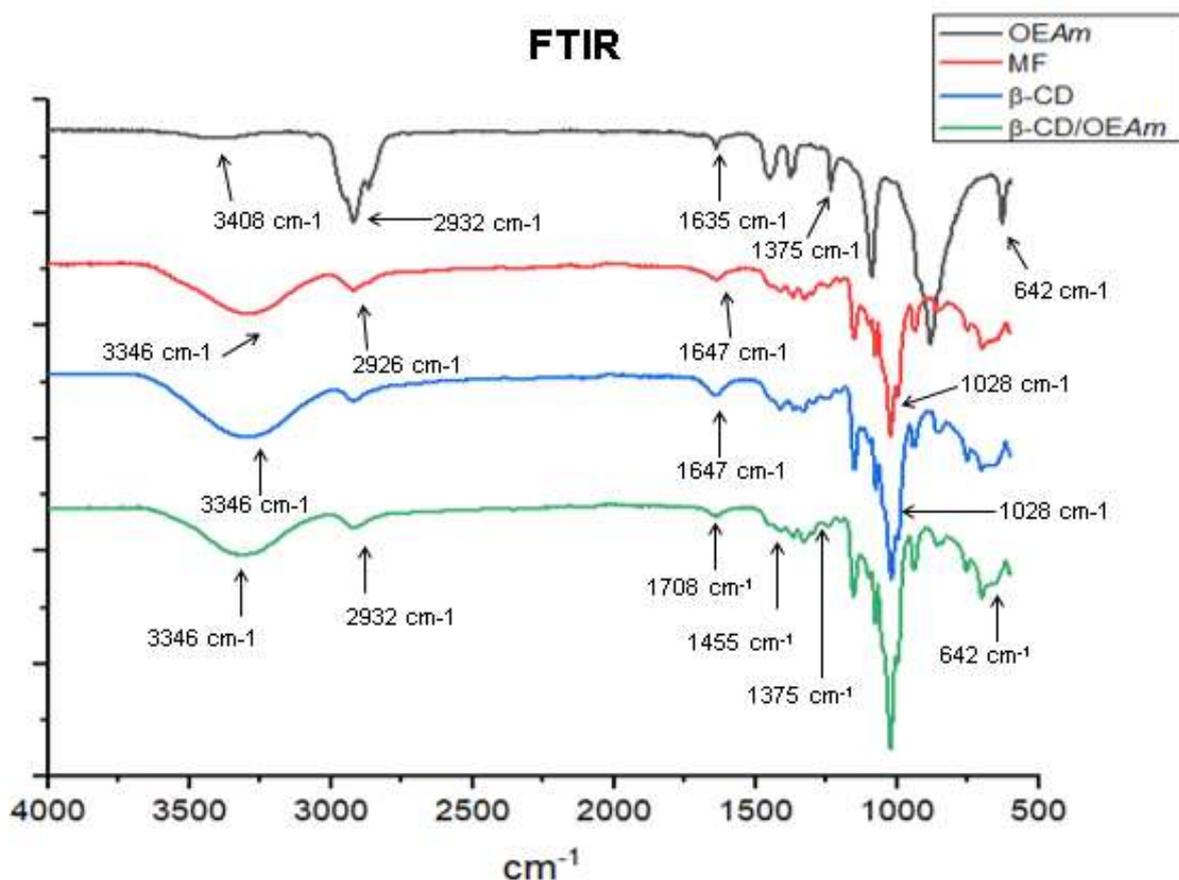


Figura 9 - Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). Óleo essencial (linha preta), mistura física (linha vermelha), β -Ciclodextrina (linha azul) e complexado (linha verde).

A mistura física mostrou bandas de absorção saliente em 3346 cm^{-1} (estiramento O – H) devido à estrutura química da β -CD, 2926 cm^{-1} (estiramento C – H), 1647 cm^{-1} (alongamento C=C) característica atribuída também devido à presença de OE na mistura, 1154 cm^{-1} (estiramento C – O) e uma proeminente absorção em 1028 cm^{-1} (estiramento C – O – C). Essa amostra apresenta picos característicos ao OE, e novos picos que tem um perfil mais destacados, graças ao perfil da β -CD isolada.

A molécula livre de β -CD se destaca por um pico proeminente na banda de 3346 cm^{-1} (estiramento O – H) e 1647 cm^{-1} (alongamento C=C)

devido à sua estrutura química. Além disso, existe uma absorção destacada na banda de 1028 cm⁻¹ (estiramento C – O – C).

A amostra do complexado no espectro destaca-se por ter uma forte semelhança com o espectro da mistura física, enfatizando a redução das bandas 2932 cm⁻¹, 2867 cm⁻¹, 1708 cm⁻¹, 1455 cm⁻¹, 1375 cm⁻¹ e 642 cm⁻¹ que estão presentes na amostra de OE livre. Essa redução de intensidade ocorreu devido à inserção de uma molécula hóspede (OEAm) na cavidade da β -CD, essa inclusão provoca o aprisionamento das moléculas, evitando que elas exerçam livremente as movimentações conformacionais de estiramento (alteração de comprimento da ligação) e flexão (alteração do ângulo da ligação) (DE SOUZA et al., 2020; STENHOFF et al., 2020; TIMILSENA et al., 2019). Os dados obtidos refutam a capacidade que a β -CD tem de incluir no seu interior moléculas de características únicas como os óleos essenciais.

5.3.2. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Com aplicabilidade iniciada na década de 50, as técnicas de análise térmicas vêm sendo cada vez mais útil na caracterização de compostos farmacêuticos, elas são utilizadas para investigar e medir a estabilidade física (perda de massa, desidratação/solvatação, degradação, decomposição), serve também para analisar as transições de fase (fusão, sublimação, conversão de polimorfo) e alguns outros fenômenos um pouco mais complexos como reação química, vitrificação (LIN; WANG, 2012). Com aplicação viável para estudos do processo de complexação da β -CD, as técnicas mais úteis para esse estudo são à calorimetria de varredura diferencial (DSC) e a termogravimetria (TGA) (FORD; MANN, 2012; LIN; WANG, 2012). O princípio básico do DSC consiste em aquecer, resfriar ou manter uma constância térmica (isotérmico) – estudo de entalpia - devido as mudanças nas propriedades físicas e químicas de um material em função da temperatura ou do tempo de um material, com isso as transições ou eventos energéticos são investigados em função do tempo ou da temperatura em relação a uma referência padrão (BLANCO, 2020; LIN; WANG, 2012).

Segundo o estudo do DSC na figura 10, é possível identificar que se destacam os picos endotérmicos de fluxos de calor, ou seja, as moléculas em

estudo precisaram receber calor para poder sofrer degradação parcial ou total. O *OEAm* obteve três picos, um exotérmico e dois endotérmicos, o primeiro foi endotérmico entre 50 – 125 °C que está relacionado a volatilização dos metabólitos secundários, em seguida ocorre um pico exotérmico que está relacionado com uma liberação de calor por causa da volatilização. Já o segundo pico endotérmico do *OEAm* ocorreu entre 175-300 °C e está relacionado a uma degradação completa das moléculas não voláteis. A mistura física que tem o óleo e a ciclodextrina sem formar a complexo de inclusão, apresentou uma hibridização dos picos, pois as mudanças térmicas presente nos resultados de *OEAm* e β -CD, pois durante a complexação o *OEAm* não foi aprisionado na cavidade do β -CD, nisso eles se volatilizaram de forma independente. A β -CD apresentou 2 picos endotérmicos, o primeiro ocorreu próximo aos 130 °C, temperatura atribuída a desidratação da molécula, e o segundo pico entre 300 e 330 °C que corresponde à fusão da ciclodextrina.

Por fim, a amostra que sofreu o processo de complexação β -CD/*OEAm* passou pela análise do DSC, nisso foi verificado que na temperatura próxima a 120 °C apresentou uma redução na intensidade de desidratação relacionada ao β -CD, provavelmente devido ao deslocamento das moléculas de água presentes na cavidade β -CD para que o *OEAm* se acomode, ainda é possível identificar um pico próximo aos 300 °C e ele serve para reforçar que nesta temperatura a ciclodextrina entre em fusão e se decompõe (ANDRADE et al., 2017; BESERRA-FILHO et al., 2019; HERRERA et al., 2019; RODRIGUES et al., 2017). Assim, com esses dados é possível compreender quando há uma complexação em β -Ciclodextrina.

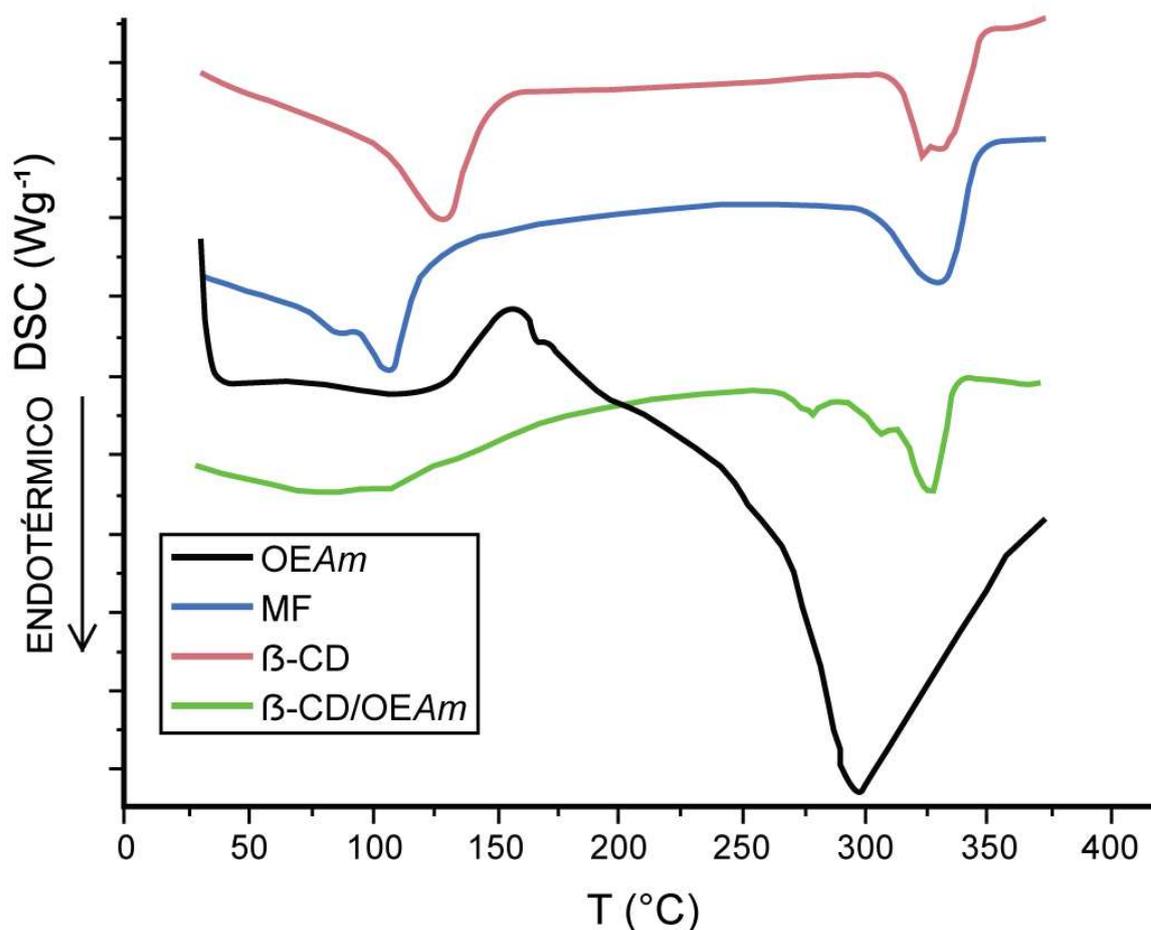


Figura 10 - Termograma por calorimetria exploratória diferencial (DSC). Óleo essencial *Algrizea minor* (linha preta); Mistura física (linha azul); β -Ciclodextrina (linha vermelha); Complexo de inclusão β -Ciclodextrina/ Óleo essencial *Algrizea minor* (linha verde).

5.3.3. Termogravimetria (TG)

A termogravimetria, assim como o DSC é um método calorimétrico bastante empregado na análise de compostos químicos, em especial os de utilidade farmacológica. Assim, o fundamento da técnica consiste em fazer uma avaliação térmica onde o peso de uma amostra é continuamente medido sob uma faixa de temperatura crescente até haver a perda total da massa (BACH; CHEN, 2017).

Segundo a figura 11 a análise de perda de massa no decorrer do aumento da temperatura mostrou que o OEAm devido a sua característica volátil teve uma perda de massa progressiva desde o início da análise, chegando a perder sua massa total ao atingir a temperatura de 200 °C. Na β -CD é visualizada uma primeira perda de

massa entre 100 e 150 °C relacionado a perda de água, em seguida se mantém uma estabilidade até a temperatura de aproximadamente 300 °C, quando há uma segunda perda de massa, dessa vez total sugerindo uma degradação da ciclodextrina. A mistura física apresenta as características tanto do OEAm quanto do β -CD, assim podemos ver uma primeira perda de massa na mesma faixa de temperatura que o OEAm e uma segunda perda de massa característico da β -CD. Por ultimo, o TG do β -CD/OEAm mostrou uma estabilidade, tendo em vista que a primeira perda de massa foi sutil, ou seja, o OEAm não perdeu seus metabólitos secundários devido a volatilização, já a segunda perda de massa ocorreu próximo dos 300 °C e é a responsável pela degradação da β -CD (CHEN et al., 2019; ZHONG et al., 2020). Dessa forma, essa técnica ilustrou que o processo de complexação é útil e funcional para aprisionar as propriedades químicas dos óleos essenciais.

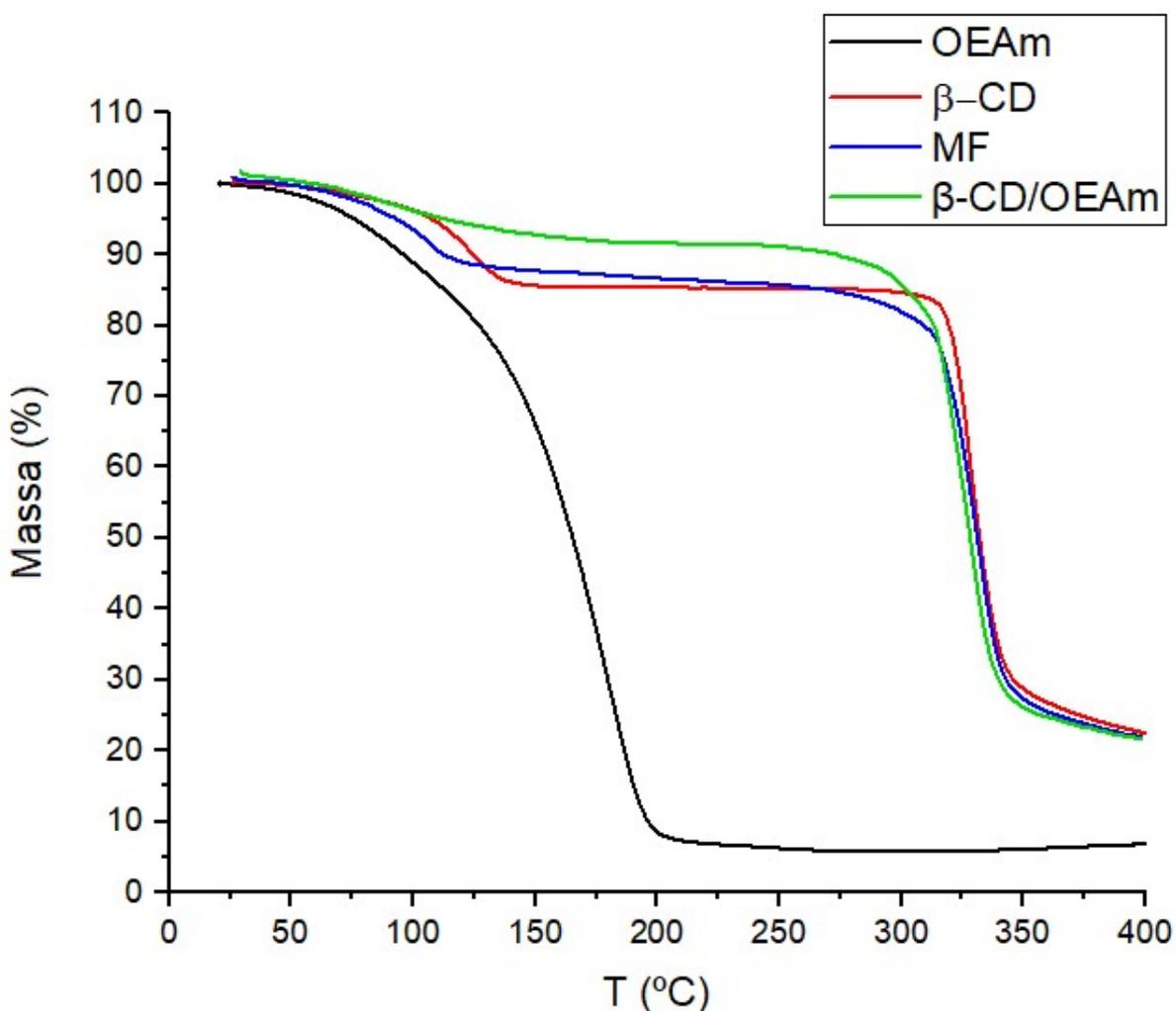


Figura 11 - Curvas de perda de massa de acordo com o aumento da temperatura por termogravimetria (TG). Óleo essencial *Algrizea minor* (linha preta); Mistura física (linha azul);

β -Ciclodextrina (linha vermelha); Complexo de inclusão β -Ciclodextrina/ Óleo essencial *Algrizea minor* (linha verde).

5.4. ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA POR ÁCIDO ACÉTICO (0,8%)

A dor funciona como um alerta agudo fisiológico para o organismo, ela informa que o corpo está passando por uma ameaça possivelmente prejudicial, esse alerta vai desencadear uma resposta rápida ao estímulo, assim vai ser possível interromper a lesão precocemente (SANTOS et al., 2020). Por mais que seja necessário o estímulo da dor, quando esse mecanismo se torna crônico há uma diminuição da qualidade de vida (DINAKAR; STILLMAN, 2016).

O teste de contorção por ácido acético (0,8%) mostrou uma redução significativa do estímulo doloroso nos grupos que tiveram a administração do OEAm ou do β -CD/OEAm. A figura 12 mostra que o óleo livre conseguiu inibir as contorções em 34, 56 e 89% nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/kg, respectivamente, enquanto que nas mesmas concentrações o complexado inibiu 60, 83 e 100% do estímulo da dor, evidenciando que o óleo quando complexado potencializa seu efeito curativo. A indometacina, como droga padrão no processo curativo da dor causou uma redução de apenas 61%, estatisticamente próximo do complexado a 50 mg/kg. Além disso, o OEAm mostrou que atua em dose dependência, diminuindo a percepção dolorosa à medida que há aumento da dosagem, chegando a inibir o processo doloroso em 100% quando administrado na concentração de 100 mg/kg na forma complexada com a β -Ciclodextrina.

A droga padrão indometacina (50 mg/kg), um anti-inflamatório não esteroidal (AINE), serve como um fármaco antinociceptico, anti-inflamatório e antipirético, sendo usado no tratamento de doenças inflamatórias crônicas (MORAIS et al., 2020). A indometacina na inflamação e febre atua como um inibidor da síntese de prostaglandinas, já na dor reduz a sensibilização nos neurônios aferentes primários e na medula espinhal (ARROYO-LIRA; RODRÍGUEZ-RAMOS; CHÁVEZ-PIÑA, 2014), sendo assim, deduz-se que o OEAm também atua reduzindo a sensibilização neuronal.

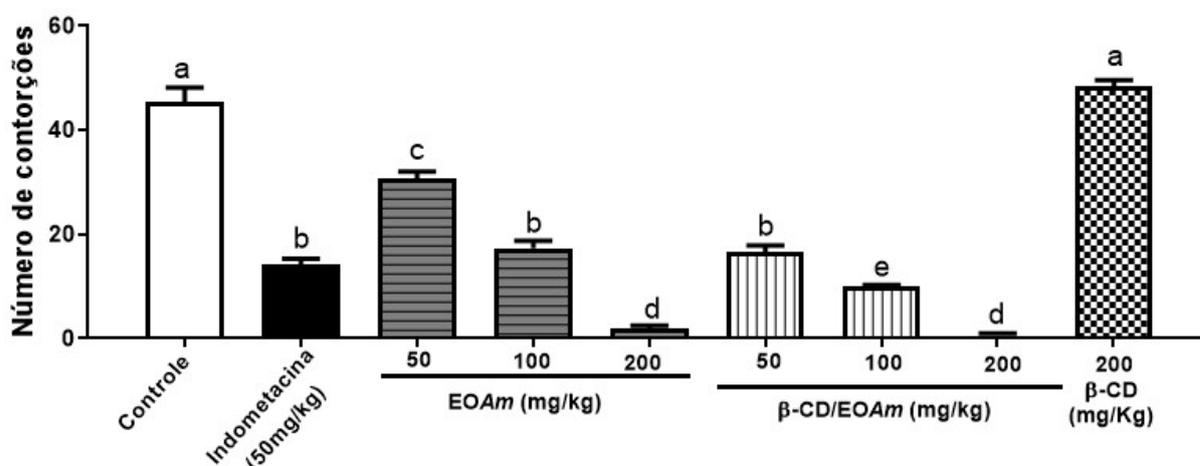


Figura 12 - Atividade antinociceptiva por dor abdominal induzida por ácido acético (0,8%) intraperitoneal do óleo essencial e do complexo de inclusão em β -ciclodextrina da *Algrizea minor*. Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.

5.5. NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA E MECANISMOS DE AÇÃO

O teste da formalina é a forma de identificação do processo nociceptivo mais utilizado nas pesquisas clínicas, pois consegue identificar a dor em 2 fases, a fase neurogênica e na fase inflamatória. A primeira é registrada nos primeiros 5 minutos após a administração intraplantar de formalina (2,5%) e é responsável pela dor neurogênica, pois ativa os estímulos químicos das fibras aferentes mielinizadas ou não, em especial as fibras tipo C e A δ , que só reverte o efeito frente a medicamentos que agem no sistema opióide, como a morfina (SEADI PEREIRA et al., 2009). Já a segunda fase, ela ocorre entre os 15 a 30 minutos após a administração intraplantar da formalina, sendo responsável pela ativação da dor inflamatória que envolve a participação de mediadores químicos pró-inflamatórios como as prostaglandinas, serotonina, histamina e bradicinina, que fornecem uma ativação a nível espinhal, esse sistema pode ser inibido a partir da administração de indometacina, um anti-inflamatório que reduz a concentração desses mediadores (CAREY et al., 2017; CHEN et al., 2013; ISMAIL et al., 2020).

Os dados obtidos no teste foram eficazes de evidenciar um efeito nociceptivo do OEAm e do β -CD/OEAm (Figura 13). Na primeira fase, onde é registrada a dor neurogênica a indometacina (50 mg/kg) não fez efeito, mostrando uma resposta de lambida na pata igual ao grupo que não passou por tratamento nenhum, já a

morfina, um medicamento opióide padrão mostrou uma redução de 78,1% em relação ao controle. O óleo essencial livre e complexado mostrou uma atividade dose dependente, pois no OEAm houve inibição de 22,3%, 61,1% e 73,6%, nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/kg, respectivamente, enquanto que o β -CD/OEAm inibiu em 48,8%, 81,7%, 90,2% nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/kg, respectivamente. Com isso, é visualizado que na dose mais alta do OEAm houve uma inibição da dor próxima a dose do β -CD/OEAm na concentração de 100 mg/kg, enquanto que na dose mais alta do complexado (200 mg/kg) houve uma inibição superior a encontrada na morfina.

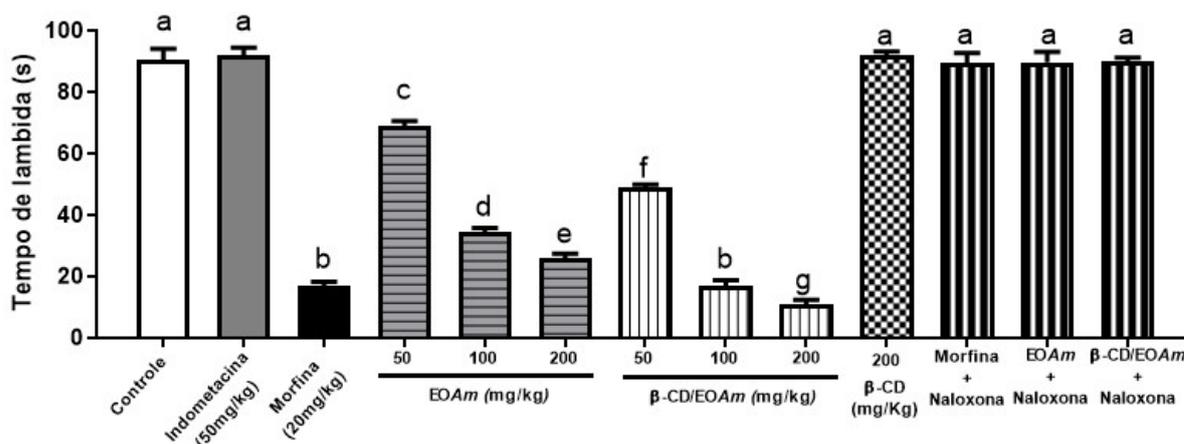


Figura 13 - Atividade antinociceptiva do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da *Algrizea minor* por indução com 2,5% de formalina intraplantar, primeira fase (neurológica). Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.

Na segunda fase do teste, a sensibilidade à dor aumentou, mostrando sua atividade anti-inflamatória (Figura 14). Nesta fase a sensação de dor foi aumentada devido a liberação de componentes químicos capazes de potencializar a sensibilização das vias de dor, sendo verificado que a indometacina conferiu um efeito significativo, reduzindo a dor em 62,4% em relação ao controle, assim como a morfina que ainda se mostra eficiente. O tratamento com o OEAm e do β -CD/OEAm, assim como na primeira fase foi dose dependente, com destaque a dosagem de 100 e 200 mg/kg do β -CD/OEAm que chegaram a inibir a sensação de dor em 93,3%. Nas duas fases a β -Ciclodextrina sem estar complexada ao OEAm não apresentou efeito nociceptivo, se mostrando inerte e sem atuação farmacológica, como já descritos na literatura.

De acordo com o mecanismo de ação, (OLIVEIRA DE VERAS et al., 2020) mostrou que a atividade do óleo essencial da *A. minor* na concentração de 100 mg/kg teve o potencial analgésico bloqueado pela naloxona (inibidor da via opioide), mas não por atropina e glibenclamida (inibidores das vias muscarínica e K+ATP, respectivamente), indicando que o efeito do óleo essencial na redução da dor é central e de caráter opioide, similar à morfina. Sendo assim, o presente trabalho explorou a via opioide como mecanismo de ação do OEAm, principalmente para verificar essa atuação depois da complexação. Com isso, foi verificado que na primeira fase a naloxona inibiu o efeito da morfina, OEAm e do β -CD/OEAm, ressaltando que na primeira fase a ação do produto é pela via opioide, já na segunda fase a morfina continua inibida, mas o OEAm e do β -CD+Am não sofreu inibição isso por que além de atuar nos receptores opióides os componentes do óleo essencial conseguem inibir a produção de mediadores químicos responsáveis pela dor inflamatória.

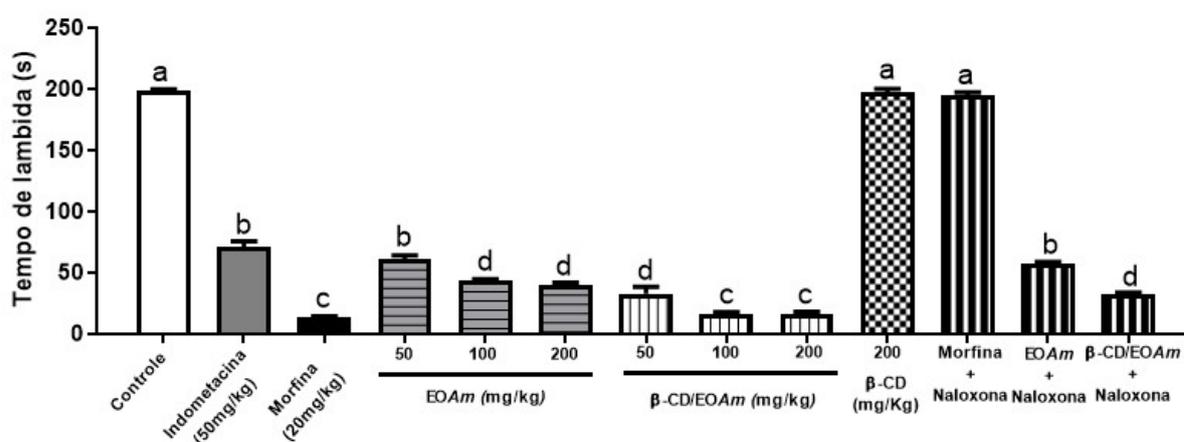


Figura 14 - Atividade antinociceptiva do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da *Algrizea minor* por indução com 2,5% de formalina intraplantar, segunda fase (inflamatória). Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.

Das drogas padrão utilizadas, a morfina é um fármaco médico padrão que serve para amenizar a dor crônica e tem difícil controle, atua na via opioide, contudo é uma droga que em utilização contínua possui sérios efeitos colaterais como tolerância, depressão respiratória e dependência física e psicológica (MILADI-GORJI et al., 2011; MORGAN; PEECHER; STREICHER, 2021). Já a indometacina, um anti-

inflamatório não esteroides (AINEs), proporciona uma redução do ambiente inflamatório por reduzir a expressão de citocinas pró-inflamatórias e aumentar as anti-inflamatórias, assim como consegue regular negativamente a produção das ciclooxigenases (COXs) (ZHANG et al., 2020). Além disso, o uso contínuo da indometacina pode provocar lesões gástricas, que pode evoluir para úlceras com sangramentos, causando bastante desconforto (TAMADDONFARD et al., 2019).

Outras espécies vegetais conseguiram mostrar uma atividade antinociceptiva no teste de formalina parecida com o OEAm, inclusive agindo por outras vias de nocicepção. A *Hymenaea cangaceira*, apresentou como majoritário o (E)-Cariofileno (23,38%) e Germacrene D (14,66%), e se mostrou efetivo em reduzir a dor no teste de formalina, na concentração de 100 mg/kg, atuando na via opióide (OLIVEIRA DE VERAS et al., 2020). Já a *Lippia gracilis* que tem o Carvacrol (44,43%) como constituintes majoritário, teve a ação nociceptiva do seu óleo essencial, na concentração de 30 mg/kg, bloqueados pela atropina e nolaxona, isso indica que a ação analgésica do óleo é feito pela via muscarínica, bloqueando os receptores colinérgicos e pela via opióide, respectivamente (GUILHON et al., 2011). KHALID et al., (2011) verificaram que o óleo essencial da *Zingiber zerumbet* na concentração de (200 mg / kg) foi bloqueado pela glibenclamida, um antagonista dos canais de K⁺ sensível ao ATP, induzindo que o óleo age através da abertura dos canais de K⁺ sensível ao ATP que permite o efluxo do íon K⁺, levando a um estado de repolarização e/ou hiperpolarização da membrana que reduz a excitabilidade da membrana.

5.6. ATIVIDADE GASTROPROTETORA

As lesões gástricas causadas por etanol são áreas de escoriações presentes na mucosa do estômago em decorrência de um desequilíbrio provocado entre as forças lesão e as forças de defesa do órgão (SHARMA; SAINI; NEHRU, 2021; SUDI; AHMED; ADZU, 2021).

O teste da atividade gastroprotetora mostrou uma potente redução na quantidade de lesão estomacal nos grupos que tiveram a administração do OEAm ou do β -

CD/OEAm. A figura 15 mostra que o óleo livre conseguiu inibir as áreas de lesão em 66,15, 73,59 e 90,25% nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/kg, respectivamente, enquanto que nas mesmas concentrações o complexado inibiu 87,12, 95,04 e 100% das lesões, evidenciando que o óleo quando complexado potencializa seu efeito gastroprotetor. A Carbenoxolona (200 mg/kg) foi utilizada como droga padrão no processo curativo da lesão gástrica e apresentou uma inibição de 54,75% em relação ao controle, valor inferior ao tratamento com o OEAm na forma livre e complexada, mostrando que o produto vegetal apresenta potente efeito gastroprotetor.

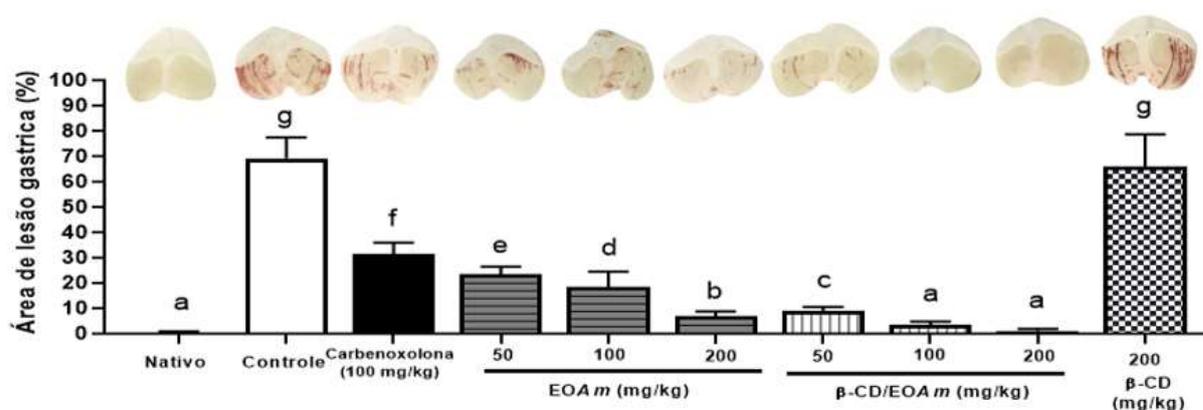


Figura 15: Atividade gastroprotetora do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da *Algrizea minor* por indução com etanol (v.o.). Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.

Além disso, foi verificado que a ação protetora no tecido gástrico ocorre em dose dependência, onde foi possível verificar que na dose de 200 mg/kg do complexo (β -CD/OEAm) não foi possível observar macroscopicamente prejuízos a mucosa. Ainda nessa perspectiva, foi possível observar que o grupo nativo não apresenta lesões, mostrando que antes da realização dos testes os animais encontravam-se saudáveis e sem nenhum tipo de injurias gástrico pré-existent. O grupo onde foi testado a β -CD sem passar pela complexação com o OEAm apresentou o mesmo grau de dano oferecido pelo controle, comprovando o conceito já estabelecido de que a β -Ciclodextrina é uma molécula inerte e não interfere nos processos curativos.

A Carbenoxolona é um medicamento anti-inflamatório e citoprotetor sobre as superfícies mucóides, sendo, portanto empregada no tratamento de lesões da mucosa, sendo assim, no tecido gástrico ela apresenta um mecanismo de ação

voltado na superexpressão das prostaglandinas que vão proporcionar um estímulo na liberação de bicarbonato, favorecendo o fluxo sanguíneo local, inibição da adesão e ativação de neutrófilos e aumento na resistência das células epiteliais contra potenciais danos por citotoxinas (GOTTFRIED; VINE; WAN, 1985; PETZOLD; DREIER, 2021).

5.7. TESTE DE BARREIRA FÍSICA

Um dos mecanismos de defesa do tecido gástrico envolve a produção de muco para promover uma barreira física contra agentes agressivos, promovendo uma proteção temporária frente a injúrias, atenuando, assim, uma extensiva lesão às células gástricas (RUIZ-HURTADO et al., 2021). A presença de óleos no estômago pode causar uma falsa impressão de um efeito protetor pelas vias químicas enquanto que a redução da lesão ocorre pela formação de uma película protetora, algo similar ao que o muco proporciona a esse órgão (PETZOLD; DREIER, 2021).

Dessa forma, segundo a figura 16, o OEAm na concentração de 200 mg/kg apresentou uma redução da área lesionada do tecido gástrico de 90,86 e 88,59% através das vias oral e intraperitoneal, respectivamente, mostrando que os componentes químicos presentes no óleo essencial da *A. minor* conseguem prevenir lesões gástricas em ambas vias administrativas, destacando-se a via oral que houve uma maior inibição, tendo em vista que a sua passagem pelo trato gastrointestinal (TGI) favorece ativação e sinergismo dos metabólitos secundários, além de gerar uma barreira física.

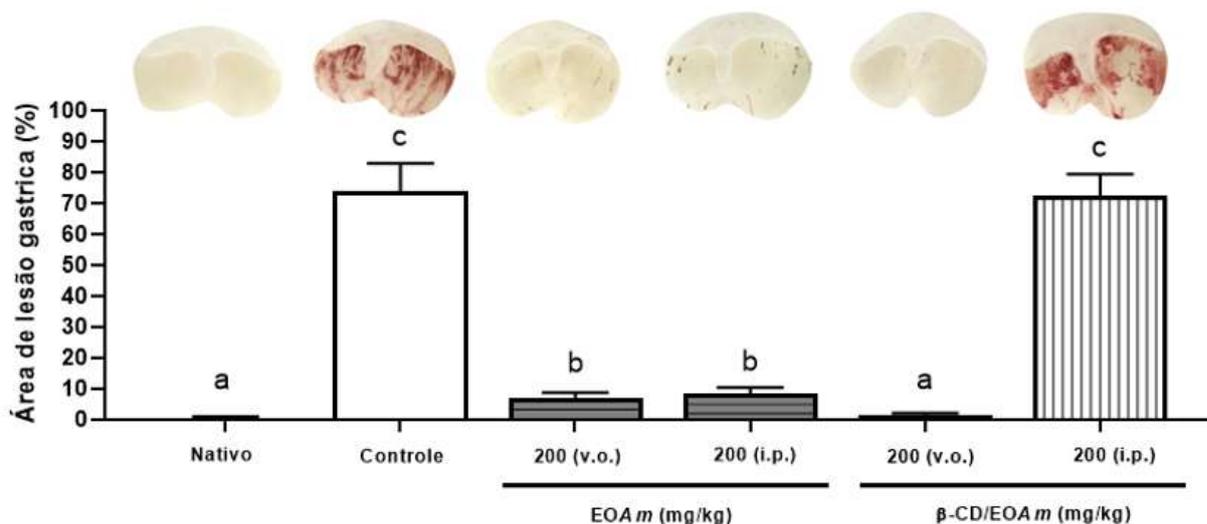


Figura 16: Atividade de barreira física do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da *Algrizea minor* por indução com etanol por via oral e intraperitoneal. As imagens dos estômagos são correspondentes às vias. Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.

Ainda na figura 16, foi testado o complexo β -CD/OEAm nas duas vias de administração (oral e intraperitoneal). Na via oral os animais apresentaram uma redução de 98,23% da área lesionada, mostrando um efeito potencializado em relação ao óleo na forma livre, enquanto que pela via intraperitoneal houve uma redução de 1,75%. Esses dados corroboram com o fato de que a molécula de β -CD precisa das enzimas do TGI para ser clivada e liberar o seu conteúdo, só assim será possível uma atividade protetora.

Com isso, é possível direcionar os dados a perspectiva de que o óleo essencial de *A. minor* pode funcionar como uma barreira física temporária e favorecer a ativação das vias químicas da gastroproteção (DE VERAS et al., 2021).

5.8. VIAS DA GASTROPROTEÇÃO

A gastroproteção ocorre por várias vias de defesa do organismo, elas funcionam como uma barreira química que combatem contra os agentes agressores em defesa da integridade física do órgão (ARUNACHALAM et al., 2019a). As maiores atuações defensivas contra os fatores ulcerogênicos contam com a ação dos receptores de óxido nítrico (NO), compostos sulfidrílicos, prostaglandinas, canais de potássio

dependente de ATP (K+ATP) e via opióide (ARUNACHALAM et al., 2019b; PEREIRA BARBOSA et al., 2019).

O teste das vias da gastroproteção mostraram que o OEAm e o β -CD/OEAm atuam em mais de um mecanismo protetor. De acordo com a figura 17, é possível visualizar que a via de maior atuação protetora se dá pelos compostos sulfidrílicos, pois o NEM (N-etilmaleimida), um bloqueador dos grupos sulfidrílica não proteicos, conseguiu reverter o efeito protetor promovido pelo OEAM e ao β -CD/OEAm, aumentando em 47,05% e 29,91% respectivamente, a lesão gástrica, devido a uma diminuição da ação de proteção que os compostos tiol favorecem a mucosa gástrica (SZABO, 2014). O efeito benéfico garantido pelos compostos sulfidrílicos se dão pela proteção garantida a mucosa gástrica por meio de seu potencial antioxidante, e também pela formação de ligações tipo dissulfeto entre as subunidades do muco, evitando assim sua dissociação (BOEING et al., 2020).

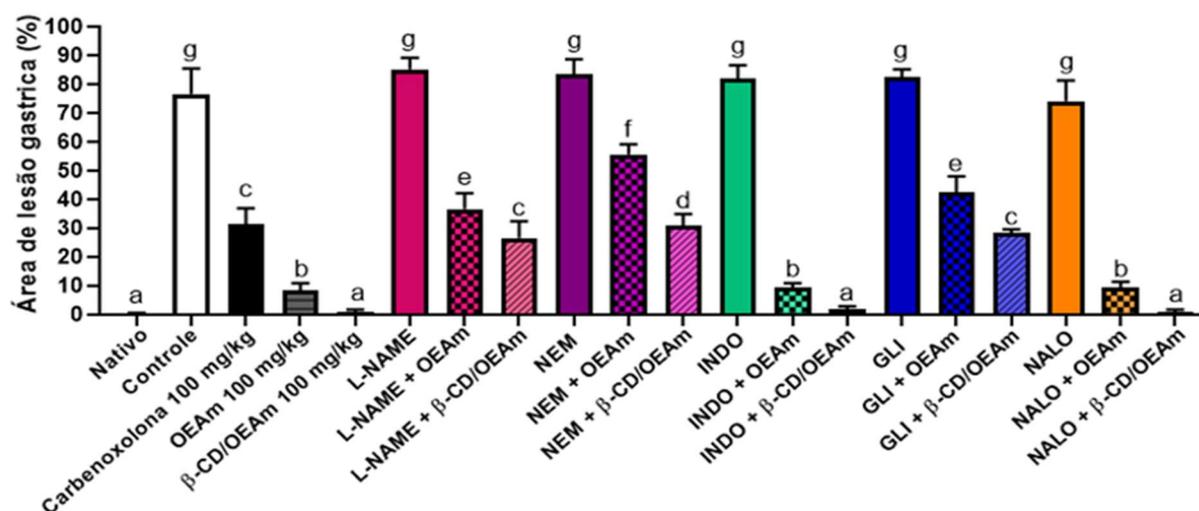


Figura 17: Atividade de vias da gastroproteção do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da *Algrizea minor* por indução com etanol por via oral. L-NAME (bloqueador da expressão de NO), NEM (bloqueador dos grupos sulfidrílica), INDO (produção de prostaglandinas), GLI (bloqueador dos canais de K+ATP), NALO (ativação da via opióide). Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.

Ainda nessa perspectiva, o OEAM e o β -CD/OEAm mostraram que também atuam pela via de expressão do óxido nítrico e dos canais de K+ATP na manutenção da proteção gástrica, porém em menor intensidade quando comparado aos compostos sulfidrílicos. O L-NAME (L- nitro-arginina metil éster) é bloqueador da expressão de NO, e sua administração nos animais suprimiu a ação protetora gástrica em relação ao óleo essencial em 28,09% e 25,53% em relação ao

complexado. Já a GLI (Glibenclamida) é um bloqueador dos canais de K⁺ATP, e sua administração reduziu a proteção da mucosa gástrica em 33,89% e 27,20% em relação ao OEAM e o β -CD/OEAm, respectivamente.

O NO tem efeito gastroprotetor devido ao fato que ele mantém o estado íntegro da mucosa gástrica devido a inibição da aderência de leucócitos no endotélio e agregação neutrofílica, além disso ele é capaz de promover vasodilatação, mediar o fluxo sanguíneo local e reparar danos promovidos pelo uso de AINEs (BALOGUN; DAMAZO; DE OLIVEIRA MARTINS, 2015). Os canais de K⁺ATP atuam na manutenção da mucosa gástrica juntamente com o NO, pois com os canais abertos o NO favorece a um aumento na irrigação sanguínea local (LI; LEI; CHEN, 2017; RIBEIRO et al., 2016), além disso, a abertura desse canal também favorece a contratilidade dos músculos locais, fator que favorece a gastroproteção (PESKAR; EHRLICH; PESKAR, 2002; SOFI et al., 2020).

Em contrapartida aos resultados já apresentados, o OEAM e o β -CD/OEAm não estimulam a produção de prostaglandinas, e nem ativam a via opióide para garantir ação protetora na mucosa gástrica, pois os bloqueadores dessas vias, INDO (Indometacina) e a NALO (Naloxona), respectivamente, não conseguiram inibir sua atividade fornecida pelos metabólitos ali presentes, pois ambos mostram uma atividade semelhante ao produto sem a presença de um bloqueador.

Ainda na mesma perspectiva, a figura 18 corrobora com os resultados apresentados anteriormente, mostrando que o NEM (C) é o que tem maior inibição da ação protetora, pois tanto no OEAM quanto no β -CD/OEAm apresentam uma extensiva área de lesão, com severa hiperemia e edemaciado. Logo em seguida vem o L-NAME (B) e GLI (E), que apresentam uma extensa área lesionada, porém em menor intensidade que o NEM. Já a INDO (D) e a NALO (F) apresentam uma área de lesão do OEAM e β -CD/OEAm semelhantes ao encontrados nos grupos controles (A).

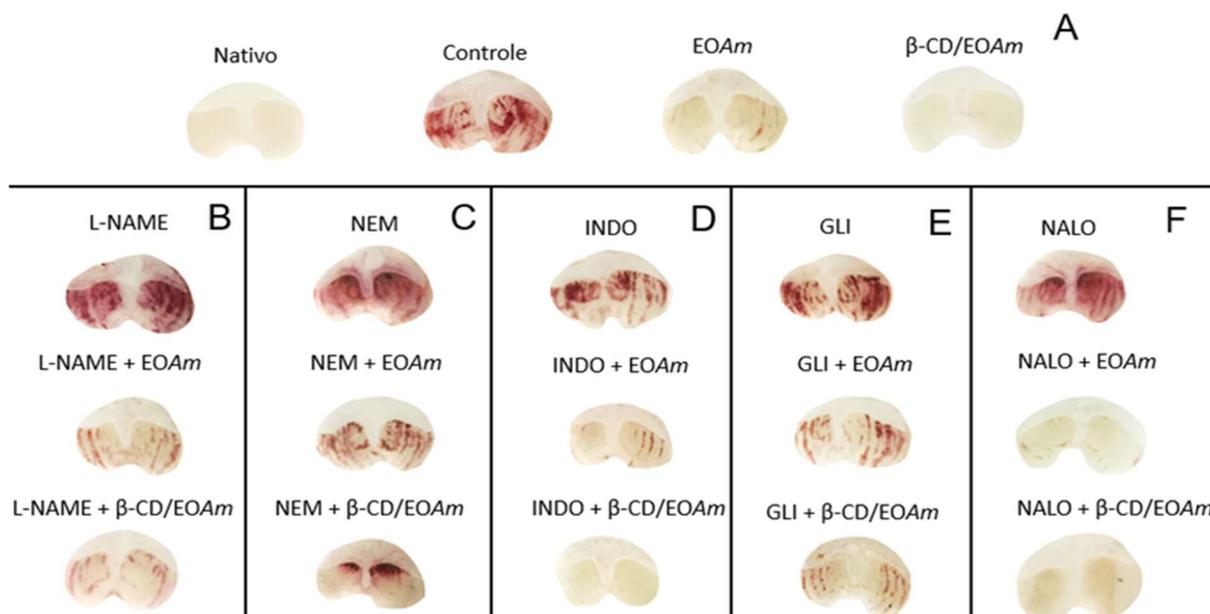


Figura 18: Ilustração da atividade de vias da gastroproteção do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da *Algrizea minor* por indução com etanol por via oral. L-NAME (bloqueador da expressão de NO), NEM (bloqueador dos grupos sulfidríla), INDO (produção de prostaglandinas), GLI (bloqueador dos canais de K^+ ATP), NALO (ativação da via opióide). Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.

5.9. DOSAGEM DE CITOCINAS

As citocinas desempenham um importante papel na barreira de defesa no tecido gástrico, quando desreguladas favorecem no enfraquecimento da mucosa (RUIZ-HURTADO et al., 2021). As citocinas pró-inflamatórias como fator tumoral alfa ($TNF-\alpha$) e Interleucina 1 beta ($IL-1\beta$) se destacam na agressão, pois aumentam gradativamente na medida em que as agressões estão presentes (KARABOĞA et al., 2018).

O $TNF-\alpha$ é uma molécula pró-inflamatória que contribui no processo apoptótico, faz recrutamento e ativação de moléculas que incita a inflamação através de outros componentes pró-inflamatórios que envolvem o recrutamento de células polimorfonucleares e ativam as vias do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B) (DE VERAS; DA SILVA; CABRAL RIBEIRO, 2021; YADAV et al., 2012). A figura 19 referente ao $TNF-\alpha$ ilustra uma redução gradativa desta molécula, na medida em que aumenta a dose do produto vegetal na forma livre ou complexada em β -CD, ilustrando assim, uma dose dependência. A droga padrão carbenoxolona

(100mg/Kg) apresentou uma redução significativa de 41,3% quando comparado ao controle, redução esta também foi verificada estatisticamente na concentração de 50 mg/Kg no OEAm. A concentração de 200 mg/Kg do OEAm/ β -CD apresentou os resultados mais promissores, devido a uma redução de 69,4%, resultado estatisticamente semelhante ao nativo, grupo de animais que não sofreu interferência agressiva por etanol absoluto e nem por tratamentos.

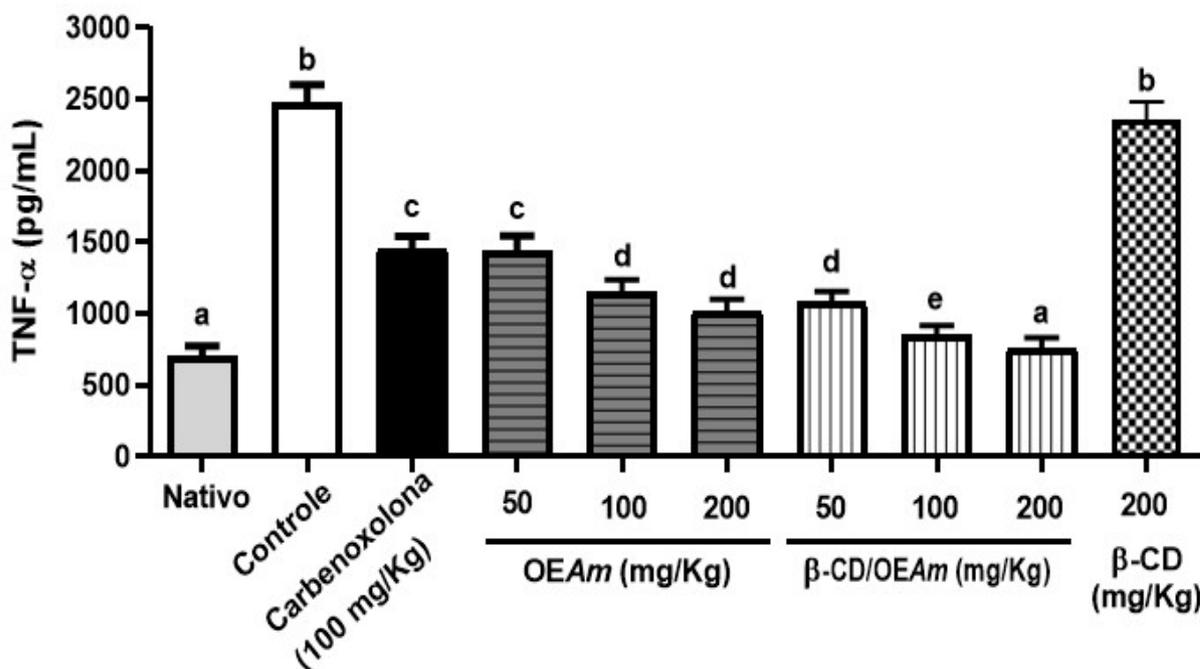


Figura 19 – Influência do óleo essencial da *Algrizea minor* na forma livre e complexada nos níveis de TNF- α em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Os dados são apresentados como médias \pm DP. Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.

A IL-1 β é responsável por garantir um aumento da produção de ácidos gástricos, que em superexpressão devido a danos inflamatórios leva progressivamente a lesão nas células da mucosa, potencializando, assim, o dano ao tecido (KARABOĞA et al., 2018; YIN et al., 2021). Na figura 20, referente à dosagem de IL-1 β é possível verificar uma redução dose dependente dessa citocina, conseguindo alcançar níveis estatisticamente iguais ao grupo nativo na concentração de 200 mg/Kg do OEAm/ β -CD, apresentando uma diminuição de 55% em relação ao grupo controle, valor esse mais representativo do que o grupo tratado com a droga padrão carbenoxolona (100mg/Kg), que teve uma redução de 33,13%.

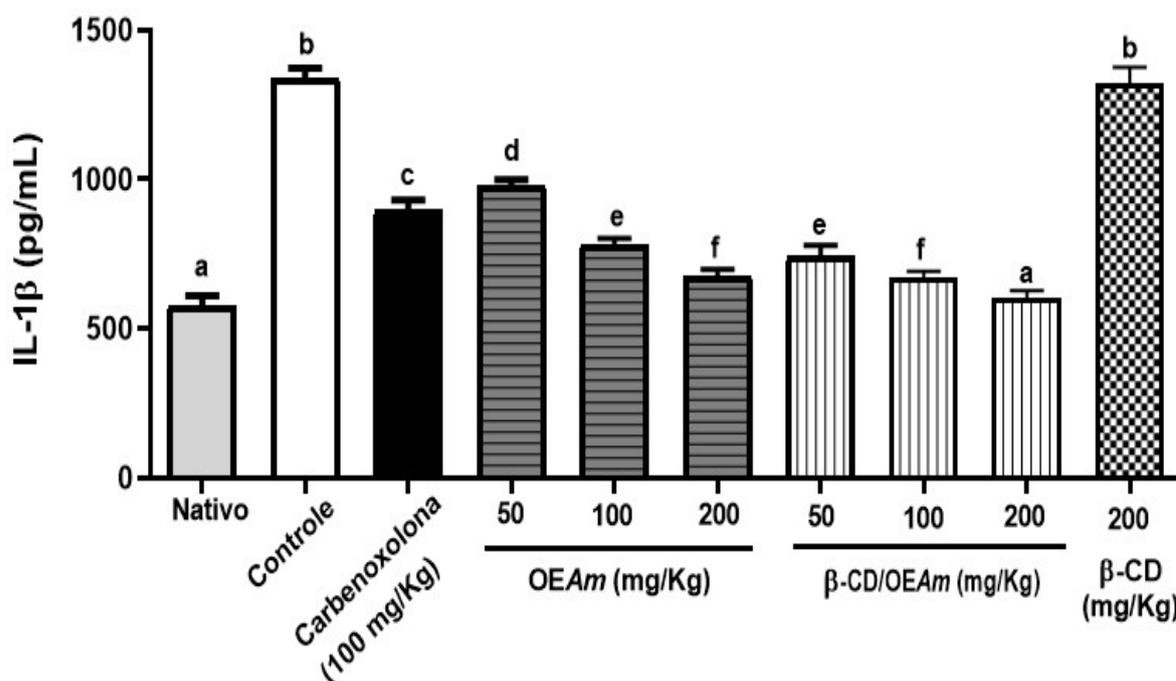


Figura 20 – Influência do óleo essencial da *Algrizea minor* na forma livre e complexada nos níveis de IL-1 β em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Os dados são apresentados como médias \pm DP. Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.

As dosagens das citocinas corroboram com outros resultados obtidos neste trabalho e se assemelham com os dados obtidos por outros autores (AKANDA et al., 2018; DE SOUZA et al., 2019; DE VERAS; DA SILVA; CABRAL RIBEIRO, 2021; LUO et al., 2018) que utilizam de moléculas de produtos vegetais para controlar os processos inflamatórios causados por agente lesionantes. Assim, é possível destacar que o OEAm é capaz de promover uma redução do processo inflamatório tanto na forma livre quanto na forma complexada.

5.10. DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS OXIDATIVOS

As espécies reativas de oxigênio (EROs) participam ativamente dos processos oxidativos oriundos de um ambiente inflamatório, que afetam diretamente a progressão e agravamento da inflamação (HUANG; REN; QU, 2019). Portanto, a regulação do nível de ROS é de grande importância para manter a homeostase

redox intracelular. As estratégias de desintoxicação de ROS compreendem tanto os elementos antioxidantes enzimáticos, quanto os não enzimáticos (MEHRABAD POUR-BENAB; FABRIKI-OURANG; MEHRABI, 2019).

A glutationa (GSH) desempenha um papel importante na manutenção do equilíbrio redox celular, pois ela reduz hidroperóxidos lipídicos para seus álcoois correspondentes e peróxido de hidrogênio livre (BODEGA et al., 2019; GHOSH; KARMAKAR, 2021). Além disso, a determinação do estresse oxidativo foi avaliado pela presença de malonaldeído (MDA), que é resultado de uma quebra dos lipídeos durante o processo de peroxidação, processo químico-biológico que desperta um dano oxidativo (EL-ASHMAWY et al., 2016).

O gráfico 21 A mostra a relação da presença do MDA com a redução do estresse oxidativo, pois sua concentração apresentou uma redução na medida em que os animais passaram por tratamentos. É possível evidenciar que na concentração de 50 mg/Kg de OEAm a quantificação do MDA é similar a droga padrão, apresentando uma redução gradual que se torna estaticamente semelhante ao grupo nativo na concentração de 200 mg/Kg. Como já esperado pelos resultados anteriores, o OEAm/ β -CD tem uma resposta mais eficiente, pois na concentração de 100 mg/Kg já é possível observar uma redução do agente oxidante a valores similares ao grupo saudável.

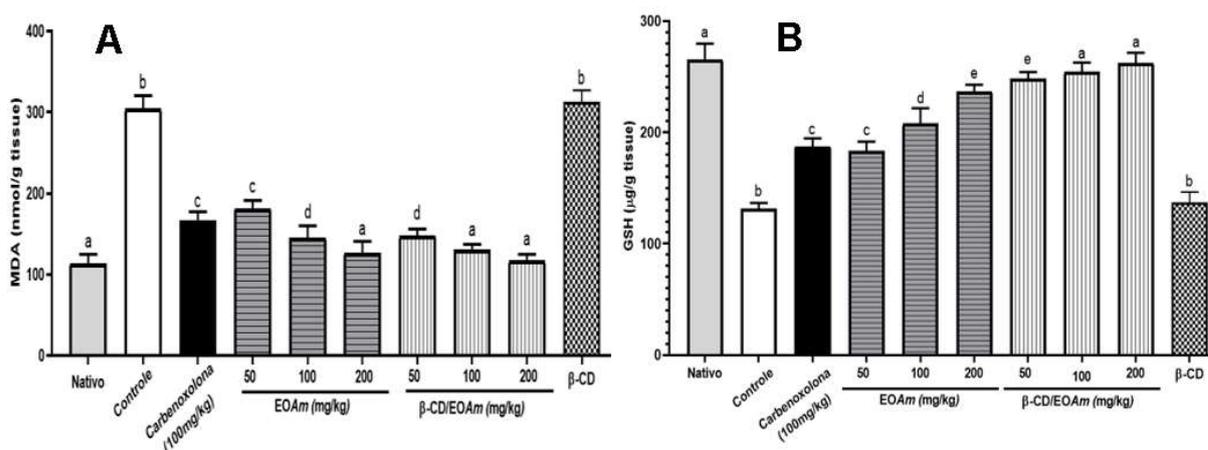


Figura 21: Determinação de componentes do estresse oxidativo oriundo da atividade gastroprotetora do óleo essencial e complexo de inclusão em β -ciclodextrina da *Algrizea minor* por indução com 0,8% de etanol por via oral. Letras diferentes significam diferença estatística, ANOVA unidirecional seguida do Teste de Tuckey.

Em contrapartida, o gráfico da figura 20 B, mostra a determinação do GSH, onde se destaca pelo aumento progressivo da quantidade desse elemento antioxidante.

Os animais tratados com o OEAm, mostraram uma boa quantidade do GSH no homegenato obtido nas concentrações de 100 e 200 mg/Kg uma resposta mais eficiente que a droga padrão utilizada (carbenoxolona), revelando um acréscimo na concentração de 12% e 27%, respectivamente. Foi possível observar também um aumento mais potente quando utilizado o óleo complexado (OEAm/ β -CD), conseguindo obter um valor estatisticamente semelhante ao grupo nativo, onde nenhum animal sofreu intervenção por administração de substâncias lesionantes.

Esses dados refutam a capacidade antioxidante do óleo essencial de Algrizea minor, que tem sua propriedade potencializada quando complexado a uma molécula inerte de β -Ciclodextrina.

5.11. AVALIAÇÃO DA HISTOLOGIA GÁSTRICA

O estudo histológico avalia as alterações teciduais de uma perspectiva microscópicas (WANG et al., 2020). Na figura 22, é possível verificar uma correlação entre as alterações macroscópicas com as alterações microscópicas. Sintomas como edema da mucosa, hiperemia da área glandular e necrose de hemorragia linear foram observados nos animais após a administração oral de uma overdose de álcool.

O grupo controle (A) não recebeu nenhum tipo de tratamento e com isso foi possível observar uma intensa destruição do tecido mucoso, perda da estrutura fundamental do tecido (epitelial colunar simples), com presença de um leve edema, além de apresentar uma moderada presença de infiltrados inflamatórios e hemorragias. O grupo nativo (B) apresenta uma estrutura tecidual conservada com a presença de mucosa com fossetas gástricas revestidas por epitélio colunar simples, além disso não indícios de edema e nem de infiltrados inflamatórios, evidenciando que este grupo não sofreu agressões com etanol. O medicamento padrão carbenoxolona (C) quando comparado ao grupo controle apresentou uma menor infiltração de células inflamatórias e um menor grau de destruição do tecido mucoso, elucidando a capacidade que o medicamento padrão tem de proteger a mucosa gástrica. Nas 3 concentrações de óleo essencial de 50, 100, 200 mg/Kg (D, E, F, respectivamente) foi possível verificar uma redução dose dependente do dano causado pelo agente agressor, principalmente pela redução dos danos teciduais e

uma menor presença de células inflamatórias, chegando a uma redução superior ao medicamento padrão, dessa maneira é possível confirmar uma atividade gastroprotetor promovidos pelos metabólitos presentes no OEAm.

As 3 concentrações do grupo do complexo OEAm/ β -CD 50, 100, 200 mg/Kg (G, H, I) mostrou uma redução ainda mais potente da reação inflamatória, que consequentemente reflete em uma gastroproteção mais efetiva, conseguindo chegar a uma estrutura intacta do tecido gástrico semelhante ao grupo nativo, apresentando uma mucosa com fossetas gástricas revestidas por epitélio colunar simples, preservação da submucosa e da região glandular. O grupo da β -CD (J) por ser uma molécula inerte e sem atividade gastroprotetora, por esse motivo este grupo apresentou uma extensa lesão tecidual, com presença de infiltrados de células inflamatórias, degradação da submucosa, com presença de edema.

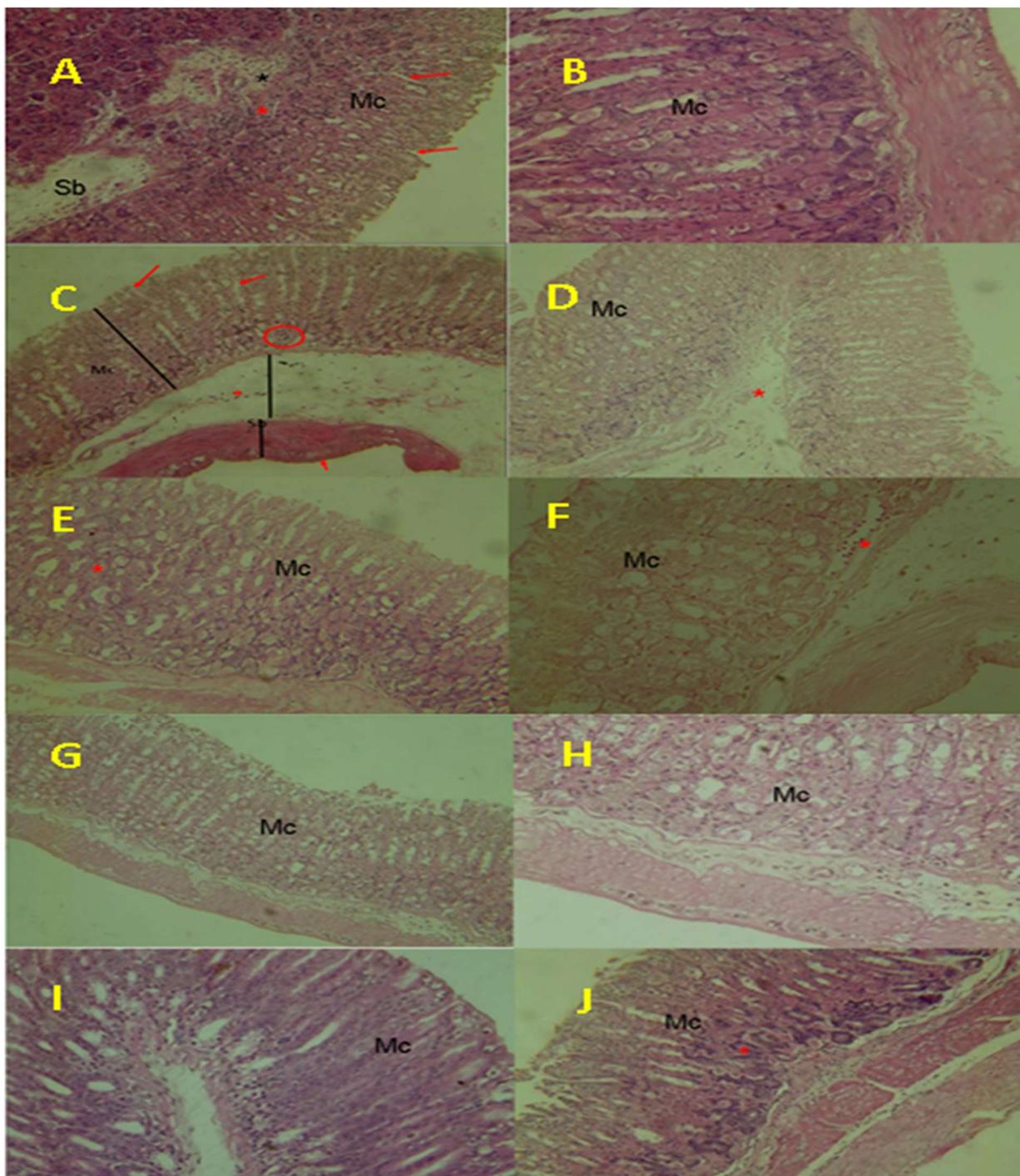


Figura 22: Histologia do estômago. A- Controle: Região glandular do estômago. Mucosa (Mc) com fossetas gástricas revestidas por epitélio colunar simples (Setas); Glândulas da região da base(círculo); muscular da mucosa (* vermelho); Muscular (m); Submucosa (Sb) com presença de Vasos sanguíneos (Vs) e apresentando um moderado infiltrado inflamatório (* preto). B- Nativo: Mucosa estomacal preservada, com fossetas gástricas revestidas por epitélio colunar simples (Setas longas); Presença de células parietais (Setas curtas) na região do istmo da fosseta, Glândulas da região da base (círculo). C- Carbenoxolona: Região glandular do estômago. Mucosa (Mc) com fossetas gástricas revestidas por epitélio colunar simples (Setas); Glândulas da região da base(círculo); muscular da mucosa (*); Muscular (m); Submucosa (Sb) com presença de Vasos sanguíneos (Vs) e apresentando um leve infiltrado inflamatório (*); Serosa (seta curta). D: OEAM 50: Região glandular do estômago semelhante ao controle positivo, apresentando um leve infiltrado inflamatório (* vermelho). E- OEAM 100. Região glandular do estômago apresenta uma leve degeneração na mucosa (* vermelho). F- OEAM 200. Região glandular do estômago preservada,

hemácias (* vermelho). G- β -CD/OEAM 50: Região glandular do estômago preservada. H- β -CD/OEAM 100: Região glandular do estômago preservada. I- β -CD/OEAM 200: Região glandular do estômago preservada. J- β -CD: apresentando um leve infiltrado inflamatório (* vermelho) na submucosa. AU 100X; Coloração H.E

Por essas perspectivas é possível comprovar através de um estudo da histológico do tecido gástrico que as alterações microscópicas fornecida são eficientes para elucidar um processo protetor garantido pela utilização de metabólitos fornecidos por produtos vegetais, assim como foi confirmado por outros autores em outros trabalhos científicos (BOEING et al., 2020) e (FAHMY et al., 2020).

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nesse trabalho foi possível extrair o óleo essencial de *A. minor*, com bom rendimento, e foi possível obter a composição química, verificando a presença de 15 constituintes, sendo os majoritários β -Pineno. Além disso, a caracterização do complexo de inclusão, foi possível observar que, em todas as metodologias aplicadas, os resultados corroboraram com a presença do OEAm complexado em β -CD. Nos testes farmacológicos envolvendo modelos nociceptivos, anti-inflamatório e gastroprotetor o óleo livre e o complexado apresentaram atividade potentes e com dose dependência. O teste de barreira física revelou que apenas o complexo por via intraperitoneal não consegue garantir a proteção gástrica. As citocinas pró-inflamatórias, os parâmetros oxidativo e a avaliação histopatológica corroboram com os resultados anteriores desse estudo. Assim, foi possível verificar que o OEAm apresentou potente atividade farmacológica, e quando associada a β -CD o seu efeito é potencializado.

7. REFERÊNCIAS

ABUBAKAR, I. B. et al. Ethnobotanical study of medicinal plants used for cancer treatment in Kebbi state, North-west Nigeria. **Acta Ecologica Sinica**, 2020.

ADEOYE, O.; CABRAL-MARQUES, H. Cyclodextrin nanosystems in oral drug delivery: A mini review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 531, n. 2, p. 521–531, 2017.

AGUIARA, U. N. et al. Preparação e caracterização do complexo de inclusão do óleo essencial de croton zehntneri com b-ciclodextrina. **Quimica Nova**, v. 37, n. 1, p. 50–55, 2014.

AKANDA, M. R. et al. Anti-inflammatory and gastroprotective roles of rabdosia inflexa through downregulation of pro-inflammatory cytokines and MAPK/NF- κ B signaling pathways. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 2, p. 1–15, 2018.

AKUTSU, H. et al. Effects of alpha-pinene odor in different concentrations on stress-induced hyperthermia in rats. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 65, n. 9, p. 1023–1025, 2003.

ALBUQUERQUE, U. P. DE; OLIVEIRA, R. F. DE. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, n. 1, p. 156–170, 2007.

AL-TAEE, H. et al. β -caryophyllene, a dietary phytocannabinoid attenuates oxidative stress, inflammation, apoptosis and prevents structural alterations of the myocardium against doxorubicin-induced acute cardiotoxicity in rats: An in vitro and in vivo study. **European Journal of Pharmacology**, v. 858, n. September 2018, p. 172467, 2019

ALVES, C. C. F. et al. Antiproliferative activity of essential oils from three plants of the brazilian cerrado: Campomanesia adamantium (myrtaceae), protium ovatum (burseraceae) and cardiopetalum calophyllum (annonaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 2, p. 290–294, 2020.

ANDRADE, T. A. et al. Physico-chemical characterization and antibacterial activity of inclusion complexes of Hyptis martiusii Benth essential oil in β -cyclodextrin. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 89, p. 201–207, 2017.

ARROYO-LIRA, A. G.; RODRÍGUEZ-RAMOS, F.; CHÁVEZ-PIÑA, A. E. Synergistic antinociceptive effect and gastric safety of the combination of docosahexaenoic acid and indomethacin in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 122, p. 74–81, 2014.

ARUNACHALAM, K. et al. *Cochlospermum regium* (Mart. ex Schrank) Pilg.: Evaluation of chemical profile, gastroprotective activity and mechanism of action of hydroethanolic extract of its xylopodium in acute and chronic experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 233, n. 2367, p. 101–114, 2019.

ASCARI, J. et al. Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of the essential oils from male and female specimens of *Baccharis punctulata* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 234, n. January, p. 1–7, 2019.

AUSTIN, P. J.; MOALEM-TAYLOR, G. The neuro-immune balance in neuropathic pain: Involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines. **Journal of Neuroimmunology**, v. 229, n. 1–2, p. 26–50, 2010.

BACH, Q. V.; CHEN, W. H. Pyrolysis characteristics and kinetics of microalgae via thermogravimetric analysis (TGA): A state-of-the-art review. **Bioresource Technology**, v. 246, p. 88–100, 2017.

BAE, G. S. et al. Protective effects of alpha-pinene in mice with cerulein-induced acute pancreatitis. **Life Sciences**, v. 91, n. 17–18, p. 866–871, 2012.

BAE, J. et al. A succinct review of refined chemical sensor systems based on conducting polymer–cyclodextrin hybrids. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 79, p. 19–28, 2019.

BALOGUN, S. O.; DAMAZO, A. S.; DE OLIVEIRA MARTINS, D. T. *Helicteres sacarolha* A. St.- Hil. et al.: Gastroprotective and possible mechanism of actions in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 166, p. 176–184, 2015.

BASAID, K. et al. Biopesticidal value of *Senecio glaucus* subsp. *coronopifolius* essential oil against pathogenic fungi, nematodes, and mites. **Materials Today: Proceedings**, n. xxxx, 2020.

BENELLI, G. et al. Insecticidal activity of camphene, zerumbone and α -humulene from *Cheilocostus speciosus* rhizome essential oil against the Old-World bollworm, *Helicoverpa armigera*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, n. November 2017, p. 781–786, 2018.

BESERRA-FILHO, J. I. A. et al. Eplingiella fruticosa leaf essential oil complexed with β -cyclodextrin produces a superior neuroprotective and behavioral profile in a mice model of Parkinson's disease. **Food and Chemical Toxicology**, v. 124, n. July 2018, p. 17–29, 2019.

BHARATE, S. B. et al. S-Euglobals: Biomimetic synthesis, antileishmanial, antimalarial, and antimicrobial activities. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 3, p. 1328–1336, 2008.

BIERKANDT, T. et al. Experimental flat flame study of monoterpenes: Insights into the combustion kinetics of α -pinene, β -pinene, and myrcene. **Proceedings of the Combustion Institute**, v. 000, p. 1–10, 2020.

BITENCOURT, M. A. O. et al. Protective effect of aqueous extract, fractions and phenolic compounds of *Hancornia speciosa* fruits on the inflammatory damage in the lungs of mice induced by *Tityus serrulatus* envenomation. **Toxicon**, v. 164, n. March, p. 1–9, 2019.

BLANCO, I. The correctness of C_p measurements by DSC, actions to do and not to do. **Thermochimica Acta**, v. 685, n. January, p. 178512, 2020.

BODEGA, G. et al. Microvesicles: ROS scavengers and ROS producers. *Journal of Extracellular Vesicles*, v. 8, n. 1, 2019.

BOEING, T. et al. Gastroprotective effect of the alkaloid boldine: Involvement of non-protein sulfhydryl groups, prostanoids and reduction on oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions*, v. 327, n. May, p. 109166, 2020.

BORGES, R. S. et al. *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 229, n. April 2018, p. 29–45, 2019.

BOUYAHYA, A. et al. Pharmacological properties and mechanism insights of Moroccan anticancer medicinal plants: What are the next steps? **Industrial Crops and Products**, v. 147, n. January, p. 112198, 2020.

BOUYANFIF, A. et al. Review of FTIR microspectroscopy applications to investigate biochemical changes in *C. elegans*. **Vibrational Spectroscopy**, v. 96, p. 74–82, 2018.

Calzetta, L., Pistocchini, E., Leo, A., Roncada, P., Ritondo, B. L., Palma, E., di Cave, D., & Britti, D. (2020). Anthelmintic medicinal plants in veterinary ethnopharmacology: A network meta-analysis following the PRISMA-P and PROSPERO recommendations. **Heliyon**, 6(2), e03256. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03256>

CAREY, L. et al. Small molecule inhibitors of PSD95–nNOS protein–protein interactions suppress formalin-evoked Fos protein expression and nociceptive behavior in rats. **Neuroscience**, v. 349, p. 303–317, 2017.

CARLOTTO, J. et al. A polysaccharide fraction from “ipê-roxo” (*Handroanthus heptaphyllus*) leaves with gastroprotective activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 226, n. April, p. 115239, 2019.

CHEN, H. et al. α -Humulene inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation and induces apoptosis through the inhibition of Akt signaling. **Food and Chemical Toxicology**, v. 134, n. April, p. 110830, 2019.

CHEN, H. et al. Development of active packaging film containing bioactive components encapsulated in β -cyclodextrin and its application. **Food Hydrocolloids**, v. 90, n. September 2018, p. 360–366, 2019.

CHEN, X. Y. et al. Simvastatin attenuates formalin-induced nociceptive behaviors by inhibiting microglial RhoA and p38 MAPK activation. **Journal of Pain**, v. 14, n. 11, p. 1310–1319, 2013.

CHEN, W. et al. Pre-protective effect of polysaccharides purified from *Herichium erinaceus* against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 159, p. 948–956, 2020.

CHO, C.H., WU K.K., S. WU, T.M. WONG, W.H.L. SO, E.S.L. LIU, K.M. CHU, V.Y. SHIN, N. Y. YI, B.C.Y. Wong, Morphine as a drug for stress ulcer prevention and healing in the stomach, **Eur. J. Pharmacol.** 460, 177–182, 2003.

COELHO, I. P. et al. Chemical profile and gastroprotective effect of *Jatropha elliptica* (Pohl) Oken roots. **Fitoterapia**, v. 146, n. May, 2020.

COIMBRA, T. et al. Anticonvulsant, sedative, anxiolytic and antidepressant activities of the essential oil of *Annona verperetorum* in mice: Involvement of GABAergic and serotonergic systems. v. 111, n. December 2018, p. 1074–1087, 2019.

COSMO ANDRADE, J. et al. Control of bacterial and fungal biofilms by natural products of *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 65, n. March, p. 226–233, 2019.

COSTA, W. K. et al. Essential oil from *Eugenia stipitata* McVaugh leaves has antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities without showing toxicity in mice. **Industrial Crops and Products**, v. 144, n. August 2019, p. 112059, 2020.

CRAGG, G.M., NEWMAN, D.J.. Natural product drug discovery in the next millennium. **Pharm. Biol.** 39, 8–17. 2001

DAS, V. **An introduction to pain pathways and pain “targets”**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2015. v. 131

DE ALMEIDA, C. DE F. C. B. R. et al. A comparison of knowledge about medicinal plants for three rural communities in the semi-arid region of northeast of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 3, p. 674–684, 2010.

DE ALMEIDA, C. F. C. B. R. et al. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). **Journal of Arid Environments**, v. 62, n. 1, p. 127–142, 2005.

DE BRUM VIEIRA, P. et al. The Caatinga endemic *Manilkara rufula* possesses remarkable activity against *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus*. **Experimental Parasitology**, v. 173, p. 18–28, 2017.

DE LACERDA NETO, L. J. et al. Gastroprotective and ulcer healing effects of hydroethanolic extract of leaves of *Caryocar coriaceum*: Mechanisms involved in the

gastroprotective activity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 261, p. 56–62, 2017.

DE MOURA BARBOSA, H. et al. Spondias tuberosa inner bark extract exert antidiabetic effects in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 227, n. August, p. 248–257, 2018.

DE O. LEITE, G. et al. Gastroprotective mechanism of Vanillosmopsis arborea bark essential oil. **Fitoterapia**, v. 80, n. 1, p. 77–80, 2009.

DE SANTANA, N. A. et al. Synthesis, characterization and cytotoxicity of the Eugenia brejoensis essential oil inclusion complex with β -cyclodextrin. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 60, n. June, 2020.

DE SOUZA, A. G. et al. Synergic antimicrobial properties of Carvacrol essential oil and montmorillonite in biodegradable starch films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 1737–1747, 2020.

DE SOUZA, C. E. S. et al. Anti-Trypanosoma, anti-Leishmania and cytotoxic activities of natural products from Psidium brownianum Mart. ex DC. and Psidium guajava var. Pomifera analysed by LC–MS. **Acta Tropica**, v. 176, n. July, p. 380–384, 2017.

DE SOUZA, M. C. et al. Gastroprotective effect of limonene in rats: Influence on oxidative stress, inflammation and gene expression. **Phytomedicine**, v. 53, p. 37–42, 2019.

DE SOUZA SAMPAIO, R. et al. Antinociceptive activity of the Psidium brownianum Mart ex DC. leaf essential oil in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 135, n. December 2019, p. 111053, 2020.

DE VERAS, B. O. et al. The essential oil of the leaves of Verbesina macrophylla (Cass.) S.F.Blake has antimicrobial, anti-inflammatory and antipyretic activities and is toxicologically safe. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 265, n. May 2020, 2021.

DE VERAS, B. O.; DA SILVA, M. V.; CABRAL RIBEIRO, P. P. Tannic acid is a gastroprotective that regulates inflammation and oxidative stress. **Food and Chemical Toxicology**, v. 156, n. July, p. 112482, 2021.

DINAKAR, P.; STILLMAN, A. M. Pathogenesis of Pain. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 23, n. 3, p. 201–208, 2016.

DOS SANTOS, J. F. S. et al. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the Eugenia uniflora essential oil against Candida spp. **Food Chemistry**, v. 261, n. April, p. 233–239, 2018.

DOS SANTOS, M. K. et al. A chitosan hydrogel-thickened nanoemulsion containing *Pelargonium graveolens* essential oil for treatment of vaginal candidiasis. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 56, n. October 2019, p. 101527, 2020.

Duarte, S. C., Salvador, N., Machado, F., Costa, E., Almeida, A., Silva, L. J. G., Pereira, A. M. P. T., Lino, C., & Pena, A. (2020). Mycotoxins in teas and medicinal plants destined to prepare infusions in Portugal. **Food Control**, 115(February), 107290. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107290>

DUBIN, A. E.; PATAPOUTIAN, A. Nociceptors: The sensors of the pain pathway. **Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 11, p. 3760–3772, 2010.

EL-ASHMAWY, N. E. et al. Gastroprotective effect of garlic in indomethacin induced gastric ulcer in rats. *Nutrition*, v. 32, n. 7–8, p. 849–854, 2016.

FAHMY, N. M. et al. Gastroprotective effects of *Erythrina speciosa* (Fabaceae) leaves cultivated in Egypt against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 248, n. June 2019, p. 112297, 2020.

FARHADI, N. et al. Changes in essential oil compositions, total phenol, flavonoids and antioxidant capacity of *Achillea millefolium* at different growth stages. **Industrial Crops and Products**, v. 152, n. March, p. 112570, 2020.

FELIPE, C. F. B. et al. Comparative study of alpha- and beta-pinene effect on PTZ-induced convulsions in mice. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, v. 33, n. 2, p. 181–190, 2019.

FERNANDES, C. et al. Investigation of the mechanisms underlying the gastroprotective effect of *Cymbopogon citratus* essential oil. **Journal of Young Pharmacists**, v. 4, n. 1, p. 28–32, 2012.

FERREIRA, O. O. et al. First report on yield and chemical composition of essential oil extracted from *myrcia eximia* DC (Myrtaceae) from the Brazilian Amazon. **Molecules**, v. 25, n. 4, 2020.

FIDELIS-DE-OLIVEIRA, P. et al. Hypotensive effect of *Eugenia dysenterica* leaf extract is primarily related to its vascular action: The possible underlying mechanisms. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 251, n. December 2019, p.

112520, 2020.

FORD, J. L.; MANN, T. E. Fast-Scan DSC and its role in pharmaceutical physical form characterisation and selection. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 5, p. 422–430, 2012.

FREITAS, P. R. et al. Characterization and antibacterial activity of the essential oil obtained from the leaves of *Baccharis coridifolia* DC against multiresistant strains. **Microbial Pathogenesis**, v. 145, n. May, p. 104223, 2020.

GIANNOULIS, K. D. et al. Irrigation and nitrogen application affect Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) dry biomass, essential oil yield and composition. **Industrial Crops and Products**, v. 150, n. October 2019, p. 112392, 2020.

GERAIS, M.; ARANTES, A. A.; MONTEIRO, R. A família Myrtaceae na Estação Ecológica do Panga , Uberlândia ,. **Candollea**, v. 3, n. 2, p. 111–127, 2002.

GHOSH, D.; KARMAKAR, P. Insight into anti-oxidative carbohydrate polymers from medicinal plants: Structure-activity relationships, mechanism of actions and interactions with bovine serum albumin. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 166, p. 1022–1034, 2021.

GIORDANI, M. A. et al. Hydroethanolic extract of the inner stem bark of *Cedrela odorata* has low toxicity and reduces hyperglycemia induced by an overload of sucrose and glucose. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 162, p. 352–361, 2015.

GOLDONI, F. C. et al. Effects of *Eugenia umbelliflora* O. Berg (Myrtaceae)-leaf extract on inflammation and hypersensitivity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 244, n. July, p. 112133, 2019.

GOMES, L.M.M.; PETITO, N.; COSTA, V.G.; FALCAO, D.Q.; ARAUJO, K.G.L. Inclusion complexes of red bell pepper pigments with β -cyclodextrin: Preparation, characterisation and application as natural colorant in yogurt. **Food Chemistry**, v. 148, p. 428–436, 2014.

GONÇALVES, A.; GUAZZELLI, M. J. Agrofloresta e Óleos Essenciais. **Centro Ecológico - Ipê/Serra**, v. 1, 2014.

GONZÁLEZ-RAMOS, R.; DEFRÈRE, S.; DEVOTO, L. Nuclear factor-kappaB: A main regulator of inflammation and cell survival in endometriosis pathophysiology. **Fertility and Sterility**, v. 98, n. 3, p. 520–528, 2012.

GOTTFRIED, S.; VINE, R. S.; WAN, B. Y. C. A quantitative morphological study of the effects of carbenoxolone sodium on duodenal goblet-cells of the rat. **General Pharmacology**, v. 16, n. 3, p. 297–298, 1985.

GOVINDARAJAN, M.; BENELLI, G. Eco-friendly larvicides from Indian plants: Effectiveness of lavandulyl acetate and bicyclogermacrene on malaria, dengue and Japanese encephalitis mosquito vectors. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 133, p. 395–402, 2016.

GUADIE, A. et al. Antibacterial activity of selected medicinal plants used by traditional healers in Genta Meyche (Southern Ethiopia) for the treatment of gastrointestinal disorders. **Journal of Herbal Medicine**, n. December 2016, p. 100338, 2020.

GUERRA, A. C. V. DE A. et al. *Libidibia ferrea* presents antiproliferative, apoptotic and antioxidant effects in a colorectal cancer cell line. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 92, p. 696–706, 2017.

GUILHON, C. C. et al. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of the action of *Lippia gracilis* essential oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, n. 2, p. 406–413, 2011.

GUZMÁN-GUTIÉRREZ, S. L. et al. Linalool and β -pinene exert their antidepressant-like activity through the monoaminergic pathway. **Life Sciences**, v. 128, p. 24–29, 2015.

HAO, D.; XIAO, P. Pharmaceutical resource discovery from traditional medicinal plants: Pharmacophylogeny and pharmacophylogenomics. **Chinese Herbal Medicines**, v. 12, n. 2, p. 104–117, 2020.

HERRERA, A. et al. Antifungal and physicochemical properties of inclusion complexes based on β -cyclodextrin and essential oil derivatives. **Food Research International**, v. 121, n. July 2018, p. 127–135, 2019.

HUANG, Y.; REN, J.; QU, X. Nanozymes: Classification, Catalytic Mechanisms, Activity Regulation, and Applications. *Chemical Reviews*, v. 119, n. 6, p. 4357–4412, 2019.

HWANG, E. S. et al. Antidepressant-like effects of β -caryophyllene on restraint plus stress-induced depression. *Behavioural Brain Research*, v. 380, n. December 2019, p. 112439, 2020.

ISABELA, M. *Brazilian Applied Science Review*. p. 1104–1110, 2018.

ISMAIL, C. A. N. et al. Expressions of spinal microglia activation, BDNF, and DREAM proteins correlated with formalin-induced nociceptive responses in painful and painless diabetic neuropathy rats. *Neuropeptides*, v. 79, n. June 2019, p. 102003, 2020.

JOHN DE OLIVEIRA MELO, A. et al. Eplingiella fruticosa (Lamiaceae) essential oil complexed with β -cyclodextrin improves its anti-hyperalgesic effect in a chronic widespread non-inflammatory muscle pain animal model. *Food and Chemical Toxicology*, v. 135, n. October 2019, p. 3–9, 2020.

JOSÉ, Í. et al. PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DA UTILIZAÇÃO DO BETA-PINENO. v. 3, p. 186–194, 2013.

KANCHANA, U. S. et al. Cyclodextrin based palladium catalysts for Suzuki reaction: An overview. *Carbohydrate Research*, v. 489, n. November 2019, p. 107954, 2020.

KARABOĞA et al. Gastroprotective effect of apricot kernel oil in ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Biotechnic and Histochemistry*, v. 93, n. 8, p. 601–607, 2018.

KHALID, M. H. et al. Antinociceptive effect of the essential oil of Zingiber zerumbet in mice: Possible mechanisms. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 137, n. 1, p. 345–351, 2011.

KIM, D. S. et al. Alpha-Pinene Exhibits Anti-Inflammatory Activity Through the

Suppression of MAPKs and the NF- κ B Pathway in Mouse Peritoneal Macrophages. **American Journal of Chinese Medicine**, v. 43, n. 4, p. 731–742, 2015

KISELEV, S. V. et al. Hemocoagulation Activity of Sulfur-Containing Pinane-Type Terpenoids. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 51, n. 5, p. 343–347, 2017

KUBALA, L. et al. Modulation of arachidonic and linoleic acid metabolites in myeloperoxidase-deficient mice during acute inflammation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 48, n. 10, p. 1311–1320, 2010.

LEITE, L. H. I. et al. Molecular mechanism underlying orofacial antinociceptive activity of *Vanillosmopsis arborea* Baker (Asteraceae) essential oil complexed with β -cyclodextrin. **Phytomedicine**, v. 55, n. May 2018, p. 293–301, 2019.

LEPPERT, W. et al. Pathophysiology and clinical characteristics of pain in most common locations in cancer patients. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 67, n. 6, p. 787–799, 2016.

LIAPI, C. et al. Antinociceptive properties of 1,8-cineole and β -pinene, from the essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* leaves, in rodents. **Planta Medica**, v. 73, n. 12, p. 1247–1254, 2007.

LIN, S. Y.; WANG, S. L. Advances in simultaneous DSC-FTIR microspectroscopy for rapid solid-state chemical stability studies: Some dipeptide drugs as examples. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 5, p. 461–478, 2012.

LIU, Q. et al. Novel cyclodextrin-based adsorbents for removing pollutants from wastewater: A critical review. **Chemosphere**, v. 241, n. 130, p. 125043, 2020.

LI, S.; LEI, Y.; CHEN, J. D. Z. Roles of ATP sensitive potassium channel in modulating gastric tone and accommodation in dogs. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 52, n. 5, p. 515–522, 2017.

LI, X. J. et al. α -Pinene, linalool, and 1-octanol contribute to the topical anti-inflammatory and analgesic activities of frankincense by inhibiting COX-2. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 179, p. 22–26, 2016.

LI, Y. et al. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, n. January, p. 80–89, 2020.

LI, Y. Q.; KONG, D. X.; WU, H. Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy. **Industrial Crops and Products**, v. 41, n. 1, p. 269–278, 2013.

LIAO, S. et al. One-pot synthesis and antimicrobial evaluation of novel 3-cyanopyridine derivatives of (–)- β -pinene. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 6, p. 1512–1515, 2016.

LU, J. et al. Changes of intestinal microflora diversity in diarrhea model of KM mice and effects of *Psidium guajava* L. as the treatment agent for diarrhea. **Journal of Infection and Public Health**, v. 13, n. 1, p. 16–26, 2020.

LUNA, M. S. M. et al. Bioprospection of *Libidibia ferrea* var. *ferrea*: Phytochemical properties and antibacterial activity. **South African Journal of Botany**, v. 130, p. 103–108, 2020.

LUO, C. et al. Protective effect of coptisine free base on indomethacin-induced gastric ulcers in rats: Characterization of potential molecular mechanisms. **Life Sciences**, v. 193, p. 47–56, 2018.

MAGALHÃES, K. DO N. et al. Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 237, n. August 2018, p. 314–353, 2019.

MALFERTHEINER, P.; CHAN, F. K.; MCCOLL, K. EL. Peptic ulcer disease. **The Lancet**, v. 374, n. 9699, p. 1449–1461, 2009.

MARQUES, C. S. et al. β -Cyclodextrin inclusion complexes with essential oils: Obtention, characterization, antimicrobial activity and potential application for food preservative sachets. **Food Research International**, v. 119, n. January, p. 499–509, 2019.

MARRETO, R. N. et al. Thermochemica Acta Thermal analysis and gas chromatography coupled mass spectrometry analyses of hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex containing *Lippia gracilis* essential oil. v. 475, p. 53–58, 2008.

MARTINS, J. L. R. et al. Mechanisms involved in the gastroprotective activity of *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent on gastric lesions in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, n. 3, p. 1616–1624, 2014.

MATSUDA, H., Y. LI, M. YOSHIKAWA, Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulfhydryls, and prostaglandins in gastroprotection by momordin Ic an oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats, **Life Sci.** 65, 27–32, 1999.

MATSUO, A. L. et al. α -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 411, n. 2, p. 449–454, 2011.

MATTHEWS JUCÁ, D. et al. The essential oil of eucalyptus tereticornis and its constituents, α - and β -pinene, show accelerative properties on rat gastrointestinal transit. **Planta Medica**, v. 77, n. 1, p. 57–59, 2011.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 428–435, 2008.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771–776, 2010.

MEHRABAD POUR-BENAB, S.; FABRIKI-OURANG, S.; MEHRABI, A. A. Expression of dehydrin and antioxidant genes and enzymatic antioxidant defense under drought stress in wild relatives of wheat. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 33, n. 1, p. 1063–1073, 2019.

MEMARIANI, Z. et al. Protective effect of essential oil of *Pistacia atlantica* Desf. on peptic ulcer: Role of α -pinene. **Journal of Traditional Chinese Medicine**, v. 37, n. 1, p. 57–63, 2017.

MILADI-GORJI, H. et al. Voluntary exercise ameliorates cognitive deficits in morphine dependent rats: The role of hippocampal brain-derived neurotrophic factor. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 96, n. 3, p. 479–491, 2011.

MITCHELL, J. P.; CARMODY, R. J. NF- κ B and the Transcriptional Control of Inflammation. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v. 335, p. 41–84, 2018.

MORAIS, M. G. et al. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of the ethanol extract of ripe fruits of *Solanum lycocarpum* St. Hil. (Solanaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 262, n. November 2019, 2020.

MORGAN, M. M.; PEECHER, D. L.; STREICHER, J. M. Use of home cage wheel running to assess the behavioural effects of administering a mu/delta opioid receptor heterodimer antagonist for spontaneous morphine withdrawal in the rat. **Behavioural Brain Research**, v. 397, n. September 2020, p. 112953, 2021.

MOROOLE, M. A. et al. Author 's Accepted Manuscript. **Journal of Ethnopharmacology**, 2019.

MUSCELLA, A. et al. Bradykinin stimulates prostaglandin E2 release in human skeletal muscular fibroblasts. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 507, n. September 2019, p. 110771, 2020.

Myrtaceae in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 07 out. 2020

NARARAK, J. et al. Excito-repellency and biological safety of β -caryophyllene oxide against *Aedes albopictus* and *Anopheles dirus* (Diptera: Culicidae). **Acta Tropica**, v. 210, n. May, p. 105556, 2020.

NETO, A. A. C.; SILVA, P. P. A.; GONÇALVES, A. Z. **Nutrição mineral: avaliando a escassez nutricional em plantas**. [s.l: s.n.].

NEWTON, K.; DIXIT, V. M. Signaling in innate immunity and inflammation. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 4, n. 3, 2012.

NGUYEN, L. T. et al. The inhibitory effects of β -caryophyllene, β -caryophyllene oxide and α -humulene on the activities of the main drug-metabolizing enzymes in rat and human liver in vitro. **Chemico-Biological Interactions**, v. 278, n. May, p. 123–128, 2017.

NOGUEIRA, M. T. D.; LOURENÇO, J. A. A. Óleos essenciais: A normalização e a sua importância no âmbito do regulamento REACH. **Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais. Curso Teórico-Prático**, n. Figura 1, p. 106–136, 2007.

OLIVEIRA DE VERAS, B. et al. Chemical composition and evaluation of the antinociceptive, antioxidant and antimicrobial effects of essential oil from *Hymenaea cangaceira* (Pinto, Mansano & Azevedo) native to Brazil: A natural medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 247, n. August 2019, p. 112265, 2020.

ONG, H. C. et al. A state-of-the-art review on thermochemical conversion of biomass for biofuel production: A TG-FTIR approach. **Energy Conversion and Management**, v. 209, n. December 2019, p. 112634, 2020.

PANYADEE, P. et al. SC. *Journal of Ethnopharmacology*, p. 111927, 2019.
PEREIRA, T. A. et al. Exotic Vegetable Oils for Cosmetic O / W Nanoemulsions : In Vivo Evaluation. **molecules**, v. 21, p. 1–16, 2016.

PEREIRA BARBOSA, J. A. et al. Gastroprotective effect of ethyl acetate extract from *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechman and underlying mechanisms. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 112, n. January, p. 108582, 2019.

PEREIRA, P. S. et al. Trypanocide, antileishmania and cytotoxic activities of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* L in vitro. **Industrial Crops and Products**, v. 109, n. May, p. 724–729, 2017.

PESKAR B.M., EHRLICH K., PESKAR B.A. Role of ATP-sensitive potassium channels in prostaglandin-mediated gastroprotection in the rat. **J. Pharmacol.** 30, 969–974, 2002.

PETIT, T.; PUSKAR, L. FTIR spectroscopy of nanodiamonds: Methods and interpretation. **Diamond and Related Materials**, v. 89, n. August, p. 52–66, 2018.

PETZOLD, G. C.; DREIER, J. P. Spreading depolarization evoked by endothelin-1 is inhibited by octanol but not by carbenoxolone. *Brain Hemorrhages*, v. 2, n. 1, p. 6–14, 2021.

PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: Perfumes for pollinator attraction and defense. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, n. 3, p. 237–243, 2002.

Pradhan, D.K., Mishra, M.N., Mishra, A., Panda, A.K., Behera, R.K., Jha, S., Choudhury, S., A Comprehensive Review of Plants used as Contraceptives. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Research** 4, 148-155; 2012.

PRAKASH, A. et al. Essential oil based nanoemulsions to improve the microbial quality of minimally processed fruits and vegetables: A review. **Food Research International**, v. 111, n. May, p. 509–523, 2018.

PRASANSUKLAB, A.; BRIMSON, J. M.; TENCOMNAO, T. Potential Thai medicinal plants for neurodegenerative diseases: A review focusing on the anti-glutamate toxicity effect. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, n. xxxx, 2020

PROENÇA, C.E.B.; NICLUGHADHA, E.M.; LUCAS, E.J.; WOODGYER, E.M. *Algrizea* (Myrteae, Myrtaceae): a new genus from the highlands of Brazil. *Systematic Botany* v. 31, p.320-326, 2006.

RADU, C. D.; PARTENI, O.; OCHIUZ, L. Applications of cyclodextrins in medical textiles — review. **Journal of Controlled Release**, v. 224, p. 146–157, 2016.

RADULOVIĆ, N. S. et al. Aboriginal bush foods: A major phloroglucinol from Crimson Bottlebrush flowers (*Callistemon citrinus*, Myrtaceae) displays strong antinociceptive and anti-inflammatory activity. **Food Research International**, v. 77, p. 280–289, 2015.

RAHGOZAR, M., PAZOKITOROUDI, H., A. BAKHTIARIAN, B. DJAHANGUIRI, Diazoxide, a KATP opener, accelerates restitution of ethanol or indomethacin-induced gastric ulceration in rats independent of polyamines, **Journal Gastroenterol Hepatol** 16, 290–296, 2001.

RAKMAI, J. et al. Physico-chemical characterization and evaluation of bio-efficacies of black pepper essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. **Food Hydrocolloids**, v. 65, p. 157–164, 2017.

RAKMAI, J. et al. Antioxidant and antimicrobial properties of encapsulated guava leaf oil in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. **Industrial Crops and Products**, v. 111, n. October 2017, p. 219–225, 2018.

RIBEIRO, A. R. S. et al. Gastroprotective effects of thymol on acute and chronic ulcers in rats: The role of prostaglandins, ATP-sensitive K⁺ channels, and gastric mucus secretion. *Chemico-Biological Interactions*, v. 244, p. 121–128, 2016.

RICCIARDOLO, F. L. M. et al. Bradykinin in asthma: Modulation of airway inflammation and remodelling. **European Journal of Pharmacology**, v. 827, n. September 2017, p. 181–188, 2018.

RIYAZI, A. et al. The effect of the volatile oil from ginger rhizomes (*Zingiber officinale*), its fractions and isolated compounds on the 5-HT₃ receptor complex and the serotonergic system of the rat ileum. **Planta Medica**, v. 73, n. 4, p. 355–362, 2007.

RODRIGUES, L. B. et al. Anti-inflammatory activity of the essential oil obtained from *Ocimum basilicum* complexed with β -cyclodextrin (β -CD) in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 836–846, 2017.

RODRIGUEZ, L. Pathophysiology of pain: Implications for perioperative nursing. **AORN Journal**, v. 101, n. 3, p. 338–344, 2015.

ROQUE, A.. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 12, p. 31–42, 2010.

ROY, N.; BOMZAN, P.; NATH ROY, M. Probing Host-Guest inclusion complexes of Ambroxol Hydrochloride with α - & β -Cyclodextrins by physicochemical contrivance subsequently optimized by molecular modeling simulations. **Chemical Physics Letters**, v. 748, n. February, p. 137372, 2020.

RUFINO, A. T. et al. Anti-inflammatory and chondroprotective activity of (+)- α -pinene: Structural and enantiomeric selectivity. **Journal of Natural Products**, v. 77, n. 2, p. 264–269, 2014.

RUIZ-HURTADO, P. A. et al. Evaluation of the gastroprotective effects of Chihuahua propolis on indomethacin- induced gastric ulcers in mouse. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 137, 2021.

RUSSO, M. M.; SUNDARAMURTHI, T. An Overview of Cancer Pain: Epidemiology and Pathophysiology. **Seminars in Oncology Nursing**, v. 35, n. 3, p. 223–228, 2019.

SALAGA, M., ZATORSKI, H., ZIELINSKA, M., MOSINSKA P, TIMMERMANS J-P, KORDEK R, et al. Highly selective CB2 receptor agonist A836339 has gastroprotective effect on experimentally induced gastric ulcers in mice. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, 390, 27-39, 2017.

SALEHI, B. et al. Therapeutic potential of α -and β -pinene: A miracle gift of nature. **Biomolecules**, v. 9, n. 11, p. 1–34, 2019.

SANTIN, J. R. et al. Antiulcer effects of *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC (Asteraceae) (Marcela), a folk medicine plant, in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 2, p. 334–339, 2010.

SANTOS, D. S. et al. Beyond inflammation: Centrally mediated antinociceptive properties of *Spirulina platensis* LEB-18 biomass via the opioid system. **Journal of Functional Foods**, v. 72, n. May, p. 104083, 2020.

SANTOS, F. A. V. et al. Antibacterial activity of *Plectranthus amboinicus* Lour (Lamiaceae) essential oil against *Streptococcus mutans*. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 8, n. 3, p. 293–297, 2016.

SANTOS, M. E. P. et al. Hypotensive and vasorelaxant effects induced by the ethanolic extract of the *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (Mimosaceae) inflorescences in normotensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 164, p. 120–128, 2015.

SEADI PEREIRA, P. J. et al. Nociceptive and inflammatory responses induced by formalin in the orofacial region of rats: Effect of anti-TNF α strategies. **International Immunopharmacology**, v. 9, n. 1, p. 80–85, 2009.

SHARMA, C. et al. Polypharmacological Properties and Therapeutic Potential of β -

Caryophyllene: A Dietary Phytocannabinoid of Pharmaceutical Promise. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 21, p. 3237–3264, 2016.

SHARMA, S.; SAINI, A.; NEHRU, B. Neuroprotective effects of carbenoxolone against amyloid-beta 1–42 oligomer-induced neuroinflammation and cognitive decline in rats. *NeuroToxicology*, v. 83, n. January, p. 89–105, 2021.

SHERJE, A. P. et al. Cyclodextrin-based nanosponges: A critical review. **Carbohydrate Polymers**, v. 173, n. 1, p. 37–49, 2017.

SILVA, G. D. et al. The spinal anti-inflammatory mechanism of motor cortex stimulation: Cause of success and refractoriness in neuropathic pain? **Journal of Neuroinflammation**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2015.

SILVA, M.F. Uma análise do bioma caatinga no município de Gado Bravo- PB através do índice de vegetação por diferença normalizada. Disponível em <<http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/handle/tede/2293>>. Acesso em 09/05/19 às 11:00h.

SILVESTRE, W. P. et al. Pervaporation in the separation of essential oil components: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 93, n. August, p. 42–52, 2019.

SOBRAL, M.; FARIA JR., J. E. Q.; PROENÇA, C. E. B. A new species of *Algrizea* (Myrteae, Myrtaceae) from Bahia, Brazil. **Neodiversity**, v. 5, n. 1, p. 1–6, 2010.

SOFI, S. H. et al. Gastroprotective activity of *Hypericum perforatum* extract in ethanol-induced gastric mucosal injury in Wistar rats: A possible involvement of H⁺/K⁺ ATPase α inhibition. *Heliyon*, v. 6, n. 10, 2020.

SOMENSI, L. B. et al. Hydroalcoholic extract from bark of *Persea major* (Meisn.) L.E. Kopp (Lauraceae) exerts antiulcer effects in rodents by the strengthening of the gastric protective factors. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 209, n. July, p. 294–304, 2017.

STADNIK, A.; OLIVEIRA, M. I. U. DE; ROQUE, N. Levantamento florístico de Myrtaceae no município de Jacobina, Chapada Diamantina, Estado da Bahia, Brasil.

Hoehnea, v. 43, n. 1, p. 87–97, 2016.

STENHOFF, A. et al. Quadrangle Jo ur na l P re. **Journal of Contextual Behavioral Science**, p. 105398, 2020.

SUDI, I. Y.; AHMED, M. U.; ADZU, B. *Sphaeranthus senegalensis* DC: Evaluation of chemical constituents, oral safety, gastroprotective activity, and mechanism of action of its hydroethanolic extract. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 268, n. November 2020, p. 113597, 2021.

SZABO, S. “Gastric cytoprotection” is still relevant. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, v. 29, n. S4, p. 124–132, 2014.

TAMADDONFARD, E. et al. Safranal, a constituent of saffron, exerts gastro-protective effects against indomethacin-induced gastric ulcer. **Life Sciences**, v. 224, n. January, p. 88–94, 2019.

TARUMI, W.; SHINOHARA, K. Olfactory Exposure to β -Caryophyllene Increases Testosterone Levels in Women’s Saliva. **Sexual Medicine**, v. 8, n. 3, p. 525–531, 2020.

TAVARES, L. P. et al. Blame the signaling: Role of cAMP for the resolution of inflammation. **Pharmacological Research**, v. 159, n. May, p. 105030, 2020.

TIAN, B.; HUA, S.; LIU, J. Cyclodextrin-based delivery systems for chemotherapeutic anticancer drugs: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 232, n. December 2019, p. 115805, 2020.

TIMILSENA, Y. P. et al. Investigation of oil distribution in spray-dried chia seed oil microcapsules using synchrotron-FTIR microspectroscopy. **Food Chemistry**, v. 275, n. August 2018, p. 457–466, 2019.

TJØLSEN, A. et al. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, n. 1, p. 5–17, 1992.

TOHIDI, B.; RAHIMMALEK, M.; TRINDADE, H. Review on essential oil, extracts

composition, molecular and phytochemical properties of *Thymus* species in Iran. **Industrial Crops and Products**, v. 134, n. August 2018, p. 89–99, 2019.

TRENTIN, D. D. S. et al. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 327–335, 2011.

VAN HEES, T.; PIEL, G.; DE HASSONVILLE, S. H.; EVRARD, B.; DELATTRE, L. Determination of the free/included piroxicam ratio in cyclodextrin complexes: Comparison between UV spectrophotometry and differential scanning calorimetry. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 15, p. 347–353, 2002.

VIDAL, C. S. et al. Gastroprotective effect and mechanism of action of *Croton rhamnifolioides* essential oil in mice. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 89, p. 47–55, 2017.

VIEIRA, P. D. B. et al. Caatinga plants: Natural and semi-synthetic compounds potentially active against *Trichomonas vaginalis*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 9, p. 2229–2236, 2016.

VRANOVA, E.; COMAN, D.; GRUISSEM, W. Network analysis of the MVA and MEP pathways for isoprenoid synthesis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, n. April 2016, p. 665–700, 2013

WANG, B. et al. Extraction, purification, and determination of the gastroprotective activity of glucomannan from *Bletilla striata*. *Carbohydrate Polymers*, v. 246, n. June, p. 116620, 2020.

WANG, T.; LI, B.; SI, H.; CHEN, L. Release characteristics and antibacterial activity of solid state eugenol/ β -cyclodextrin inclusion complex. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 71, p. 207–213, 2011.

WANG, Y. et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel β -pinene-based thiazole derivatives as potential anticancer agents via mitochondrial-mediated apoptosis pathway. **Bioorganic Chemistry**, v. 84, n. September 2018, p. 468–477, 2019.

World Health Organization. 2002. Traditional Medicine-Growing Needs and Potential. **WHO 790 Policy Perspectives on Medicines** No. 002.

XU, J. L. et al. FTIR and Raman imaging for microplastics analysis: State of the art, challenges and prospects. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 119, p. 115629, 2019.

XU, Y. et al. Citrus CmTPS1 is associated with formation of sesquiterpene bicyclogermacrene. **Scientia Horticulturae**, v. 226, n. May, p. 133–140, 2017.

XU, Y. et al. Effects of zein stabilized clove essential oil Pickering emulsion on the structure and properties of chitosan-based edible films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 156, p. 111–119, 2020.

YADAV, S. K. et al. Molecular mechanism of indomethacin-induced gastropathy. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 52, n. 7, p. 1175–1187, 2012.

YANG, N. Y. et al. Two new α -pinene derivatives from *Angelica sinensis* and their anticoagulative activities. **Fitoterapia**, v. 82, n. 4, p. 692–695, 2011.

YARUSHKINA, N.; BOGDANOV, A.; FILARETOVA, L. Somatic pain sensitivity during formation and healing of acetic acid-induced gastric ulcers in conscious rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 126–127, p. 100–105, 2006.

YIN, Z. et al. Gastric submucosal alleviated pro-inflammation cytokines mediated initial dysfunction of islets allografts. **Transplant Immunology**, v. 65, n. February 2020, p. 101292, 2021.

YOSHIHARA, K.; HIROSE, Y. **The Sesquiterpenes of *Dendropanax trifidus*** **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, 1978.

YUAN, C. et al. Physicochemical characterization and antibacterial activity assessment of lavender essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. **Industrial Crops and Products**, v. 130, n. December 2017, p. 104–110, 2019.

Z., Z. et al. Synergistic antitumor effect of α -pinene and β -pinene with paclitaxel against non-small-cell lung carcinoma (NSCLC). **Drug Research**, v. 65, n. 4, p. 214–

218, 2015.

ZAMYAD, M. et al. The anticonvulsant effects of ducrosia anethifolia (boiss) essential oil are produced by its main component alpha-pinene in rats. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 77, n. 2, p. 106–114, 2019.

ZENI, A. L. B. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau , Santa Catarina , Brasil Use of medicinal plants as home remedies in Primary Health Care in Blumenau – State of Santa Catarina, Brazil. **Ciência & Saúde Coletiv**, p. 2703–2712, 2017.

ZHANG, X. et al. Herb-drug interaction in the protective effect of Alpinia officinarum against gastric injury induced by indomethacin based on pharmacokinetic, tissue distribution and excretion studies in rats. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 2020.

ZHANG, H. et al. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. **Food Research International**, v. 39, n. 8, p. 833–839, 2006.

ZHONG, H. et al. Insight into β -cyclodextrin polymer microsphere as a potential filtration reducer in water-based drilling fluids for high temperature application. **Carbohydrate Polymers**, v. 249, n. August, p. 116833, 2020.

ZHOU, D.; YANG, Q.; TIAN, T.; CHANG, Y.; LI, Y.; DUAN, L.; LI, H.; WANG, S. Gastroprotective effect of gallic acid against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the Nrf2/HO-1 signaling and anti-apoptosis role. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 126, p. 110075, 2020.