

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

SARAH OLIVIA ALVES MENDES DA COSTA

ATIVIDADES DO (2E,3E)-3-BUTEN-2-ONA-4-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL)-2-(4-(4-METOXIFENIL)-2-TIAZOLIL)HIDRAZONA, UM ANÁLOGO DA CURCUMINA, EM MODELOS DE DOR E INFLAMAÇÃO

Belo Horizonte

2020

SARAH OLIVIA ALVES MENDES DA COSTA

ATIVIDADES DO (2E,3E)-3-BUTEN-2-ONA-4-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL)-2-(4-(4-METOXIFENIL)-2-TIAZOLIL)HIDRAZONA, UM ANÁLOGO DA CURCUMINA, EM MODELOS DE DOR E INFLAMAÇÃO

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obter o grau de mestra em Ciências Farmacêuticas.

Orientadores:

Prof. Dr. Renes de Resende Machado

Prof. Dr. Márcio de Matos Coelho

Belo Horizonte

2020

Costa, Sarah Olivia Alves Mendes da.

C837a Atividades do (2e,3e)-3-buten-2-ona-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-(4-metoxifenil)-2-tiazolil)hidrazona, um análogo da curcumina, em modelos de dor e inflamação / Sarah Olivia Alves Mendes da Costa. – 2020.
71 f. : il.

Orientador: Renes de Resende Machado.
Coorientador: Márcio de Matos Coelho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Curcumina – Teses. 2. Inflamação – Teses. 3. Agentes antiinflamatórios – Teses. 4. Dor – Teses. 5. Citocinas – Teses. I. Machado, Renes de Resende. II. Coelho, Márcio de Matos. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 615.1

Elaborado por Darlene Teresinha Schuler – CRB-6/1759



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

ATIVIDADES DA (2E,3E)-3-BUTEN-2-ONA-4-(4-HIDROXI-3- METOXIFENIL)-2-(4-(4-METOXIFENIL)-2-TIAZOLIL)HIDRAZONA, UM ANÁLOGO DA CURCUMINA, EM MODELOS DE DOR E INFLAMAÇÃO

SARAH OLIVIA ALVES MENDES DA COSTA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós- Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestra em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de concentração CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

Aprovada em 21 de agosto de 2020, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Renes de Resende Machado - Orientador UFMG

Prof(a). Márcio de Matos Coelho - Coorientador

Prof(a). Caryne Margotto Bertollo UFMG

Prof(a). José Eduardo Gonçalves UFMG

Belo Horizonte, 21 de agosto de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Caryne Margotto Bertollo, Professora do Magistério Superior**, em 21/08/2020, às 16:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcio de Matos Coelho, Chefe de departamento**, em 21/08/2020, às 16:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jose Eduardo Goncalves, Professor do Magistério Superior**, em 21/08/2020, às 16:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renes de Resende Machado, Professor do Magistério Superior**, em 21/08/2020, às 16:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orcao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0209762** e o código CRC **DFC825FE**.

Dedico o grau de Mestre

Aos meus pais, Deonide e Mário, à minha irmã, Sophia, aos meus avós
Deocleciano e Enir, e aos queridos amigos de longa data!

Agradecimento

A Deus, por ter me guiado nesse processo.

À minha querida família, S.T.C e aos amigos que me auxiliaram nessa caminhada e estiveram ao meu lado apoiando minhas decisões e me dando força.

Ao professor Renes Machado, por ser o melhor orientador possível. Palavras jamais serão suficientes para agradecer todo o suporte ofertado durante todos esses anos na graduação e no mestrado. Fui inspirada por seu comprometimento e esperança na pesquisa científica brasileira. Muito obrigada por tudo!

Ao professor Márcio, por todos os ensinamentos repassados.

Aos amigos do Laboratório de Farmacologia, pelos conhecimentos compartilhados, apoio e momentos de descontração.

À professora Renata Barbosa de Oliveira, do Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade Farmácia, pela colaboração e apoio.

À Maria Adelaide Fernandes e ao José Batista Viturino, pelo apoio e cooperação, indispensáveis para a realização deste trabalho.

Ao CNPq, CAPES, FAPEMIG e à Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG, pela concessão de bolsa e auxílio financeiro.

RESUMO

Modificações das estruturas químicas de substâncias com potencial terapêutico representam uma estratégia promissora no desenvolvimento de novos fármacos. A curcumina, um polifenol natural abundante no rizoma da *Curcuma longa*, é empregada na medicina tradicional devido às suas propriedades terapêuticas, principalmente anti-inflamatória. Em virtude da baixa biodisponibilidade da curcumina, análogos de curcumina foram sintetizados na tentativa de obter melhorias em características biofarmacêuticas e aumentar os efeitos biológicos. No presente estudo, avaliamos as atividades do análogo de curcumina ((2E,3E)-3-buten-2-ona-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-(4-metoxifenil)-2-tiazolil)hidrazona; RI75) em modelos de dores nociceptiva, inflamatória e neuropática e modelo de inflamação aguda em camundongos. A administração intraperitoneal (i.p.) prévia do RI75 (40 mg/kg) reduziu a alodínia mecânica induzida por carragenina ou paclitaxel. Entretanto, o RI75 não alterou a latência no modelo de resposta nociceptiva induzida por calor. A atividade motora dos animais não foi alterada pela administração do RI75. A atividade antinociceptiva do RI75 foi inibida pela administração prévia de naltrexona (5 ou 10 mg/kg, i.p.) ou ciproheptadina (5 ou 10 mg/kg, i.p.), mas não de glibenclamida (20 ou 40 mg/kg, *per os*). O pré-tratamento com o RI75 (20 ou 40 mg/kg, i.p.) reduziu o edema de pata, a produção de fator de necrose tumoral- α e interleucina-6 e a atividade da mieloperoxidase induzidos por carragenina. Concluindo, os resultados do presente estudo demonstraram a atividade do análogo de curcumina RI75 em modelos de dores inflamatória e neuropática e de inflamação. A atividade do RI75 está relacionada com a ativação de mecanismos opioidérgicos e serotoninérgicos e a redução da produção de citocinas e do recrutamento de leucócitos. Os resultados podem servir como base para a realização de ensaios pré-clínicos para a avaliação da toxicidade e do perfil farmacocinético, etapas fundamentais para o avanço de pesquisas visando ao desenvolvimento de novas alternativas farmacoterapêuticas.

Palavras-chave: Curcumina. Análogos de curcumina. (2E,3E)-3-buten-2-ona-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-(4-metoxifenil)-2-tiazolil)hidrazona. RI75. Dor. Inflamação. Citocinas.

ABSTRACT

Modifications of the chemical structures of substances with therapeutic potential represent a promising alternative aiming drug development. Curcumin is a major polyphenol isolated from the rhizome of turmeric (*Curcuma longa*) and widely used in traditional medicine due to its therapeutic properties, mainly anti-inflammatory. Due to curcumin low bioavailability, curcumin analogues have been synthesized in an attempt to improve in biopharmaceutical characteristics and increase the biological effects. In the present study, we investigated the activity of a curcumin analogue ((2E,3E)-3-buten-2-one-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-(4-(4-methoxyphenyl)-2-thiazolyl)hydrazone; RI75) in models of nociceptive, inflammatory and neuropathic pain and acute inflammation in mice. Previous intraperitoneal (i.p.) administration of RI75 (40 mg/kg) reduced the mechanical allodynia induced by carrageenan or paclitaxel. However, RI75 did not change the latency in the model of nociceptive response induced by heat. The animal motor activity was not altered by the administration of RI75. The antinociceptive activity of the RI75 was inhibited by previous administration of naltrexone (5 or 10 mg/kg, i.p.) or cyproheptadine (5 or 10 mg/kg, i.p.), but not glibenclamide (20 or 40 mg/kg, per os). Pretreatment with RI75 (20 or 40 mg/kg, i.p.) reduced paw edema, tumor necrosis factor- α and interleukin 6 production and myeloperoxidase activity induced by carrageenan. In conclusion, the results of the present study demonstrate the activity of RI75 in models of inflammatory and neuropathic pain and inflammation. The activity of RI75 is associated with activation of the opioidergic and serotonergic pathways and reduction of cytokines production and leukocyte recruitment. The results pave the way to further pre-clinical assays to evaluate the toxicological and pharmacokinetic profiles, essential steps aiming the development of new pharmacotherapeutic alternatives.

Keywords: Curcumin. Curcumin analogues. (2E,3E)-3-buten-2-one-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-(4-(4-methoxyphenyl)-2-thiazolyl)hydrazine. RI75. Pain. Inflammation. Cytokines.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

°C	Grau Celsius
%	Porcentagem
AIE	Anti-inflamatório esteroide
AINE	Anti-inflamatório não esteroide
ASC	Área sob a curva
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CFA	Adjuvante completo de Freund
cm	Centímetros
CMC	Carboximetilcelulose
COX	Ciclooxigenase
EROS	Espécies reativas de oxigênio
<i>et al.</i>	e outros
h	Hora
i.p.	Intraperitoneal
i.pl.	Intraplantar
IASP	<i>International Association for the Study of Pain</i>
IL	Interleucina
K _{ATP}	Canais para potássio ATP-dependentes
kDA	Quilodalton
kg	Quilograma
LPS	Lipopolissacarídeo
M	Molar
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitros
mm	Milímetro
mM	Milimolar
MPO	Mieloperoxidase
n	Número de animais experimentais
N	Newton
nm	Nanômetros

NF-κB	Fator nuclear kappa B
NO	Óxido nítrico
P	Probabilidade de significância
<i>p.o.</i>	<i>per os</i>
PG	Prostaglandina
rpm	Rotações por minuto
s	Segundo
SNC	Sistema nervoso central
TNF	Fator de necrose tumoral
TRP	Receptor de potencial transitório
TPA	12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato
TRPV1	Receptor vaniloide de potencial transitório tipo 1
TX	Tromboxano
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
v	Volume
µg	Micrograma
µL	Microlitro

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Tautômeros Ceto-Enol Da Curcumina	23
FIGURA 2	Análogos de curcumina utilizados em modelos de inflamação	25
FIGURA 3	Derivados tiazólicos	26
FIGURA 4	Derivados tiazólicos utilizados em modelos de inflamação e dor	27
FIGURA 5	Estrutura química do RI75	28
FIGURA 6	Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a nocicepção induzida por calor	34
FIGURA 7	Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina	35
FIGURA 8	Escala temporal da avaliação dos efeitos induzidos pelo RI75, após tratamento prévio com naltrexona, ciproheptadina ou glibenclamida, sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina	36
FIGURA 9	Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a alodínia mecânica induzida por paclitaxel	37
FIGURA 10	Escala temporal da avaliação dos efeitos induzido pelo RI75 ou fenobarbital sobre a coordenação motora	38
FIGURA 11	Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre o edema de pata induzido por carragenina	39
FIGURA 12	Efeitos induzidos por RI75, curcumina, dipirona ou veículo sobre o tempo de permanência dos camundongos na placa quente	42
FIGURA 13	Efeitos induzidos por RI75, curcumina ou dexametasona sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina	43
FIGURA 14	Efeito induzido pela naltrexona sobre a atividade antialodínica do RI75	45
FIGURA 15	Efeito induzido pela ciproheptadina sobre a atividade antialodínica do RI75	46
FIGURA 16	Efeito induzido pela glibenclamida sobre a atividade antialodínica do RI75	47
FIGURA 17	Indução do modelo de dor neuropática	48

FIGURA 18 Efeitos induzidos por RI75, curcumina ou pregabalina sobre a alodínia mecânica induzida por paclitaxel.....	49
FIGURA 19 Efeitos induzidos por RI75, curcumina, fenobarbital ou veículo sobre o tempo de permanência dos camundongos na haste girante	50
FIGURA 20 Efeitos induzidos por RI75, curcumina, dexametasona ou veículo sobre a edema de pata induzido por carragenina	51
FIGURA 21 Efeitos induzidos pelo RI75 sobre a concentração de TNF-α e IL-6 na pata dos animais	52
FIGURA 22 Efeito induzido pelo RI75 sobre a atividade da MPO na pata dos animais.....	52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1 Inflamação	16
1.2 Dor.....	18
1.2.1 Dor nociceptiva	19
1.2.2 Dor inflamatória	19
1.2.3 Dor neuropática	20
1.2.4 Dor disfuncional.....	21
1.3 Farmacoterapia da inflamação e dor	21
1.4 Curcumina e seus análogos	23
1.5 Derivados tiazólicos	26
2. JUSTIFICATIVA	28
3. OBJETIVO GERAL	29
3.1 Objetivos específicos	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 Animais	29
4.2 Fármacos, reagentes e veículos	30
4.3 Preparo das soluções e suspensões, vias de administração e doses utilizadas	31
4.3.1 RI75, curcumina e pregabalina	31
4.3.2 Preparo da suspensão de carragenina.....	32
4.3.3 Preparo das soluções de dexametasona e dipirona.....	32
4.3.4 Preparo da solução de fenobarbital	32
4.3.5 Preparo das soluções de naltrexona, ciproheptadina e glibenclamida	32
4.3.6 Preparo da solução de paclitaxel	33
4.4 Avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a resposta nociceptiva induzida por calor	33

4.5 Avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina.....	34
4.6 Avaliação dos efeitos induzidos por naltrexona, ciproheptadina e glibenclamida sobre a atividade do RI75 no modelo de alodínia mecânica induzida por carragenina.....	35
4.7 Avaliação do efeito induzido pelo RI75 no modelo de dor neuropática induzida pelo paclitaxel	36
4.8 Avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a coordenação motora...	37
4.9 Avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre o edema de pata induzido por carragenina.....	38
4.10 Determinação das concentrações de TNF- α e IL-6.....	39
4.11 Avaliação da atividade da MPO	40
4.12 Análise estatística.....	41
5. RESULTADOS	41
5.1 Efeito induzido pelo RI75 sobre a resposta nociceptiva induzida por calor.....	41
5.2 Efeito induzido pelo RI75 sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina	42
5.3 Efeitos induzidos por naltrexona, ciproheptadina ou glibenclamida sobre a atividade antialodínica do RI75	44
5.4 Efeito induzido pelo RI75 sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.....	47
5.5 Efeito induzido pelo RI75 sobre a atividade motora	49
5.6 Efeito induzido pelo RI75 sobre o edema de pata induzido por carragenina	50
5.7 Efeito induzido pelo RI75 sobre a produção de TNF- α e IL-6 e a atividade da MPO induzidas por carragenina.....	52
6. DISCUSSÃO	53
6.1 Atividade do RI75 em modelos experimentais de dor	53

6.2 Atividade do RI75 em modelo experimental de inflamação aguda	56
6.3 Papel das vias opioidérgicas e serotoninérgicas e dos canais K_{ATP} na atividade antinociceptiva do RI75	58
6.4 Limitações.....	59
6.5 Perspectivas.....	60
7. CONCLUSÃO.....	60
Referências bibliográficas	61

1. INTRODUÇÃO

1.1 Inflamação

Na presença de traumas, infecções, alérgenos e outras anormalidades, a homeostase é perdida levando à ocorrência do processo inflamatório como tentativa de restabelecer a normalidade tissular. Embora a inflamação aguda seja considerada um processo benéfico e que contribui para a restauração da homeostase tissular, o processo de inflamação não resolvido tem papel importante na patogênese e progressão de diversas doenças crônicas de elevadas morbidade e mortalidade. A reação inflamatória é reconhecida pelos sinais e sintomas cardinais, como calor, rubor, dor, tumor e perda de função. Os diferentes estímulos inflamatórios ativam fatores originários do plasma ou células que irão mediar as respostas vasculares e celulares do processo inflamatório, induzindo alterações no microambiente (COLLINS, 1999; NATHAN & DING, 2010).

A inflamação pode ser classificada como aguda ou crônica, dependendo da duração da manifestação. A inflamação aguda é de curta duração e visa à remoção do agente agressor. O quadro agudo é caracterizado por vasodilatação, exsudação de plasma e migração celular. A inflamação aguda é a primeira linha de defesa contra danos, considerada inespecífica e contribui para o reparo tecidual. Por outro lado, a inflamação crônica possui maior duração e está associada à presença de infiltrado de células mononucleares, como linfócitos e monócitos, destruição tecidual, proliferação de vasos sanguíneos e fibrose. Doenças inflamatórias crônicas de elevado impacto para a saúde pública incluem lúpus eritematoso sistêmico, doença inflamatória intestinal e artrite reumatoide, entre outras. Essas doenças são caracterizadas pela persistência do processo inflamatório, o qual se estende por meses e anos (SHERWOOD & TOLIVER-KINSKY, 2004; MEDZHITOV *et al.*, 2008; GIESECK *et al.*, 2017).

Na resposta inflamatória aguda têm-se, inicialmente, a resposta vascular com hiperemia e aumento da permeabilidade. Os mediadores plasmáticos e celulares ativados pelos estímulos inflamatórios induzem vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade de capilares

e vênulas, resultando, assim, em extravasamento de líquido para o interstício. Essas alterações contribuem para o acúmulo de líquido no espaço intersticial, o que resulta em edema (SHERWOOD & TOLIVER-KINSKY, 2004).

Geralmente, o edema está acompanhado pela migração de leucócitos da circulação para o tecido. A migração de leucócitos envolve moléculas de adesão que se ligam aos leucócitos e à superfície endotelial, além dos mediadores químicos que atraem essas células para o sítio inflamatório (RYAN & MAJNO, 1977). Os neutrófilos, que são leucócitos polimorfonucleares, são reconhecidos como um dos principais tipos celulares envolvidos na inflamação aguda. Os neutrófilos são tipicamente os primeiros leucócitos a serem recrutados para o sítio inflamatório e são capazes de eliminar os patógenos por diferentes mecanismos (COLLINS, 1999; KOLACZKOWSKA & KUBES, 2013). Durante a resposta inflamatória, vários mediadores químicos estão envolvidos, entre os quais podem ser citados os metabólitos do ácido araquidônico (AA), as citocinas e as quimiocinas (BLATTEIS, 2006).

O AA é um substrato necessário para uma variedade de processos fisiológicos, com papel importante nas funções de endotélio, plaquetas e mucosa gástrica, entre outros, e na inflamação. O AA pode ser clivado pelas enzimas ciclooxigenases (COX) e 5-lipoxigenase, entre outras, originando vários eicosanoides (BURNETT & LEVY, 2012). As duas principais isoformas da COX, COX-1 e COX-2, catalisam a conversão do AA à prostaglandina (PG) H₂, que por sua vez pode ser metabolizada aos eicosanoides tromboxano A₂ (TXA₂), PGE₂, PGD₂, PGF₂ e PGI₂, dependendo das enzimas específicas presentes na célula. Ao contrário da COX-1, que é expressa constitutivamente nas células dos diferentes tecidos do organismo, a expressão da COX-2 mais frequentemente ocorre em vários tipos celulares após contato com estímulos inflamatórios. As PGs, em interação com outros mediadores ou isoladamente, são responsáveis por muitas manifestações da resposta inflamatória, como vasodilatação e aumento da permeabilidade de vênulas pós-capilares, sensibilização de nociceptores, alteração do termostato hipotalâmico e angiogênese, entre outras (HARRIS *et al.*, 2002; GILROY, 2010).

As citocinas e as quimiocinas são mediadores inflamatórios de natureza proteica, liberadas por diferentes tipos celulares, e que apresentam papel importante no processo inflamatório. As citocinas como a interleucina-1 β (IL-1

β), a IL6 e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) são capazes de sensibilizar nociceptores, por meio da produção de eicosanoides e ativação do sistema nervoso simpático. Ainda, desencadeiam a liberação de citocinas secundárias, como as quimiocinas (COLLINS, 1999; GROSSER, 2012).

As quimiocinas são uma família de proteínas quimioatraentes de massa molecular entre 8 e 10 kDa que têm papel importante na manutenção da homeostasia da circulação dos leucócitos, além de recrutá-los para os locais específicos da lesão tecidual a fim de se iniciar o processo inflamatório e, posteriormente, reparo. As quimiocinas podem ser agrupadas em quatro grupos, de acordo com a presença e posição dos resíduos de cisteína na estrutura: quimiocinas CC, CXC, CX3C e XC (HUGHES & NIBBS, 2018). As quimiocinas se ligam aos receptores das classes CCR, CXCR e CX3CR, os quais são acoplados à proteína G. Após a interação, há ativação de uma cascata de sinalização intracelular, levando a interação da célula com proteínas integrinas conduzindo a adesão dos leucócitos e, posteriormente, a sua transmigração. Uma vez nos tecidos, as quimiocinas coordenam a migração dos leucócitos diretamente ao sítio inflamatório (VIOLA & LUSTER, 2008; ATRETKHANY *et al.*, 2016; HUGHES & NIBBS, 2018).

1.2 Dor

A dor é um fenômeno complexo que envolve tanto eventos neurofisiológicos quanto experiência de sofrimento, que mobiliza o instinto humano de cuidado. A dor é definida pela International Association for the Study of Pain (IASP) como “Uma experiência sensorial e emocional desagradável associada ou semelhante à associada a um dano tecidual real ou potencial”. A dor é o sintoma que mais frequentemente leva pacientes a procurar atendimento médico, podendo ser classificada de acordo com sua localização, duração ou intensidade (ORR *et al.*, 2017). Woolf (2004; 2010) propôs uma categorização, baseada nos estímulos e mecanismos neuroquímicos envolvidos, que consiste em dor nociceptiva, dor inflamatória, dor neuropática e dor disfuncional.

A nocicepção é uma resposta neural a estímulos sensoriais que é iniciada pelos nociceptores, terminações nervosas livres de nervos sensitivos,

os quais convertem estímulos nocivos ambientais em impulsos nervosos, que o cérebro interpreta para produzir sensação dolorosa (WOOLF, 2004; 2010). A reatividade emocional refere-se à interpretação afetiva, de caráter individual, que é influenciada por aspectos culturais, psíquicos e ambientais. Tais fatores podem modular ou distorcer a percepção do estímulo nocivo, tornando a dor uma experiência diferente para cada indivíduo (FUCHS *et al.*, 2010). Dessa maneira, a dor aguda é uma resposta protetora, que funciona como um sistema de alarme, permitindo, ao indivíduo, a percepção de situações danosas ao seu bem estar e integridade física. Assim, a dor pode ser vista como um sintoma para detecção e avaliação de doenças (WOOLF, 2004; BURMA *et al.*, 2016).

1.2.1 Dor nociceptiva

A dor nociceptiva indica a presença de um estímulo prejudicial e ocorre quando há ativação dos nociceptores (FORNASARI, 2012). Estímulos nocivos, podendo esses serem de natureza química, térmica ou mecânica ativam os nociceptores. Esses se apresentam como terminações nervosas livres do tipo A δ e C, sendo classificadas de acordo com seu diâmetro e grau de mielinização. As fibras aferentes do tipo A δ apresentam velocidade de condução rápida e respondem a estímulos mecânicos e térmicos. As fibras aferentes do tipo C (polimodais) apresentam velocidade de condução lenta e respondem a estímulos mecânicos, térmicos e químicos.

Os canais do receptor de potencial transitório (TRP) são proteínas de membranas expressas nos nociceptores que, mediante a ativação por estímulos nocivos, se abrem e despolarizam a membrana, gerando potenciais de ação que são propagados de diferentes tecidos para o corno dorsal da medula espinhal ou tronco cerebral. A informação, então, é retransmitida, direta ou indiretamente, para níveis centrais mais elevados, como o tálamo e córtex cerebral, onde a sensação dolorosa é percebida (WOOLF, 2004; DAI, 2016).

1.2.2 Dor inflamatória

Em um processo inflamatório, os nociceptores são ativados por estímulos de menor intensidade e a dor produzida pode ser mais persistente e

diferir em qualidade (WOOLF & SALTER, 2000). Assim como a dor nociceptiva, a dor inflamatória aguda é considerada adaptativa, pois possui caráter contributivo para sobrevivência e proteção do organismo (WOOLF, 2004). A dor inflamatória, categoria mais comum de dor, faz com que um elevado número de pacientes procure auxílio médico. Essa categoria de dor ocorre como resultado do processo inflamatório, no qual mediadores inflamatórios, como citocinas, quimiocinas, espécies reativas de oxigênio (EROS), proteínas quinases e outros fatores, são liberados por células presentes no tecido lesionado ou que migram para o local. Os mediadores inflamatórios sensibilizam os nociceptores, diminuindo o limiar nociceptivo e aumentando a reatividade neuronal (GROSSER *et al.*, 2012, DAI, 2016). A dor inflamatória pode ser definida como alodínia, quando for decorrente de um estímulo que normalmente não provoca dor, ou como hiperalgesia, quando se apresenta de forma mais intensa e é decorrente de um estímulo que normalmente provoca dor (IASP, 2020).

1.2.3 Dor neuropática

A dor neuropática é definida como a dor que surge como uma consequência direta de uma lesão ou doença que afeta o sistema nervoso somatossensorial. A dor neuropática não possui caráter adaptativo, sendo iniciada ou causada por uma lesão primária ou disfunção do sistema nervoso resultantes de trauma, infecção, isquemia, câncer ou outras causas, como a quimioterapia (FORNASARI, 2012). Lesões ou doenças somatossensoriais podem levar a alterações dos neurônios sensoriais, modificando a função de canais de potencial transitório e, conseqüentemente, desordem na transmissão de sinais sensoriais na medula espinhal e no cérebro, que resulta em hiperexcitabilidade neuronal (COLLOCA *et al.*, 2017).

A dor neuropática pode ter origem periférica, como na neuralgia diabética, neuralgia do trigêmeo e infiltração tumoral; origem central, como no caso de acidente vascular cerebral, esclerose múltipla ou dor induzida por quimioterapia; ou origem idiopática (SMITH *et al.*, 2013). A dor neuropática induzida por quimioterápicos é um evento adverso comum durante a farmacoterapia oncológica, sendo o motivo principal de abandono do

tratamento (CAROZZI *et al.*, 2015). Acredita-se que a ocorrência da dor neuropática na população mundial aumentará cada vez mais, devido ao envelhecimento populacional, aumento da prevalência do diabetes mellitus e sobrevivência ao câncer (COLLOCA *et al.*, 2017).

1.2.4 Dor disfuncional

A dor disfuncional é uma categoria de dor menos conhecida, sem função adaptativa e resultante de uma atividade anormal do sistema nervoso. Pacientes com essa categoria de dor não apresentam déficit neurológico ou anormalidade periférica, entretanto uma resposta ou função anormal do sistema nervoso é deflagrada, desencadeando uma sensibilização elevada dos nociceptores. Condições clínicas como fibromialgia, síndrome do intestino irritável e enxaqueca são alguns exemplos de dor disfuncional. Nessas condições, o ponto convergente é a presença de dor pronunciada, mas sem algum estímulo nocivo ou processo inflamatório (WOOLF, 2004; 2010).

1.3 Farmacoterapia da inflamação e dor

Entre os fármacos mais frequentemente usados visando à atenuação dos sinais e sintomas da inflamação, incluindo a dor, estão os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs; ONG *et al.*, 2007), os anti-inflamatórios esteroides (AIEs; BARNES *et al.*, 1993), os analgésicos não-opioides (SCHÜCHEN *et al.*, 2018) e opioides, os antidepressivos e os anticonvulsivantes (DWORKIN *et al.*, 2010).

Os AINEs estão entre os fármacos mais comumente prescritos em todo o mundo e são indicados para tratamento de pacientes com dores leves a moderadas. Alguns exemplos dessa classe incluem ácido acetilsalicílico, diclofenaco, ibuprofeno e naproxeno. Os AINEs são fármacos importantes em virtude de suas propriedades analgésica, antipirética e antiedematogênica. Um dos mecanismos de ação propostos para os AINEs é a inibição da enzima COX. A inibição dessa enzima leva à alteração do metabolismo do AA e à diminuição da formação de PGs e TXAs, reduzindo o processo inflamatório (MONTEIRO *et al.*, 2008; WALTERS *et al.*, 2016). A diminuição da produção de

PGs ocasiona menor sensibilização dos nociceptores aos mediadores inflamatórios, como bradicinina e 5-hidroxitriptamina, gerando analgesia. Como as PGs estão envolvidas na citoproteção gástrica, agregação plaquetária e autorregulação vascular renal, os efeitos adversos causados pelos AINEs são pronunciados e diversos, incluindo náusea, vômitos, dispepsia, úlceras gástricas, alterações cutâneas, alterações renais e eventos tromboembólicos (WALTERS *et al.*, 2016).

Os AIEs geralmente são utilizados para tratamento de pacientes com doenças inflamatórias crônicas e autoimunes. Hidrocortisona, prednisolona e dexametasona são os AIEs mais frequentemente prescritos. A atividade anti-inflamatória resulta de vários mecanismos, entre os quais está a inibição de fatores de transcrição gênica, como o fator nuclear kappa B (NF-κB), responsável pela síntese de mediadores inflamatórios (SONG *et al.*, 2005; KANAZAWA *et al.*, 2016). Os AIEs inibem a transcrição dos genes responsáveis pela síntese da COX-2, citocinas e moléculas de adesão celular. Os efeitos adversos relacionados ao uso de AIEs possuem relação com suas ações metabólica e imunossupressora e seu uso crônico pode resultar em condições clínicas como hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, osteoporose e catarata, entre outras (FARDET *et al.*, 2007).

Os analgésicos não-opioides (paracetamol e dipirona) e os AINEs desempenham um papel importante no manejo de diversos tipos de dores, incluindo aquelas envolvidas em doenças reumáticas. O uso de um analgésico opioide de eficácia intermediária, como codeína e tramadol, ou de um analgésico opioide de eficácia elevada, como morfina, hidromorfona e oxicodona, pode ser apropriado quando a utilização de analgésicos não opioides ou AINEs não promover alívio da dor crônica não associada ao câncer. Para pacientes com câncer, o alívio da dor é o objetivo central do cuidado. Para o manejo desse tipo de dor, os analgésicos opioides desempenham papel fundamental, apresentando alto nível de evidência clínica, embora seu uso prolongado não esteja associado a uma segurança desejável (CHERUBINO *et al.*, 2012). Entretanto, para alívio da dor neuropática, outras classes de fármacos demonstram maior eficácia. Estudos demonstram que os antidepressivos tricíclicos, inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina, anticonvulsivantes (como gabapentina e pregabalina) e

analgésicos opioides são as classes de fármacos para os quais há melhor evidência de um efeito clínico relevante (FINNERUP, 2010).

É importante destacar que apesar de serem amplamente utilizados para o tratamento de pacientes com processos inflamatórios e dolorosos, os fármacos citados anteriormente podem induzir efeitos adversos graves. Além disso, a heterogeneidade das condições clínicas e os diferentes mecanismos relacionados aos processos de dor e inflamação são condições que justificam a busca por novas alternativas farmacoterapêuticas para o manejo de pacientes com condições dolorosas e inflamatórias.

1.4 Curcumina e seus análogos

A curcumina é o componente majoritário do rizoma da cúrcuma (*Curcuma longa*), também conhecida como açafrão da Índia. A curcumina um composto amarelo, é formada por dois anéis fenólicos unidos por uma dicetona insaturada, que sofre tautomerismo ceto-enólico conforme o meio (Figura 1). Em pH neutro e ácido, a forma ceto é predominante, enquanto em pH alcalino, apresenta-se a forma enol. (KOTHA & LUTHRIA, 2019). A cúrcuma é amplamente empregada na medicina tradicional e propriedades anti-inflamatória, antialérgica, antimicrobiana, antitumoral, cicatrizante e antioxidante, entre outras, têm sido descritas (AGGARWAL & HARIKUMAR, 2009; GUPTA *et al.*, 2012; SANTIAGO *et al.*, 2015).

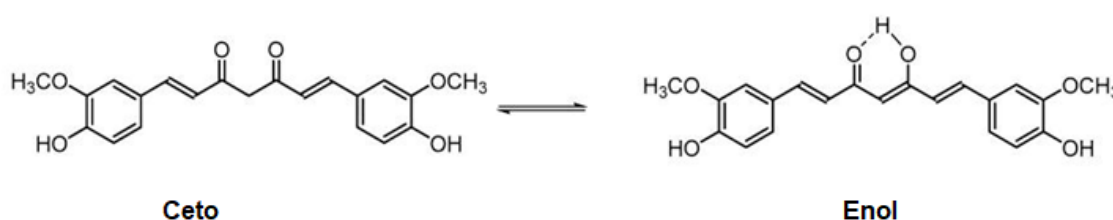


Figura 1 Tautômeros ceto-enol da curcumina

Fonte: KOTHA & LUTHRIA, 2019

Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram a atividade anti-inflamatória da curcumina. Em macrófagos murinos estimulados por lipopolissacarídeo (LPS), a curcumina inibiu a expressão de mRNA para IL-6, TNF- α , COX-2 e IL1- β (CHEN *et al.*, 2008; GUIMARÃES *et al.*, 2013). A curcumina, na dose de 40

mg/kg, por via intravenosa, reduziu a expressão gênica da enzima óxido nítrico (NO) sintase induzida e da produção de TNF- α e IL-6 em ratos estimuladas por LPS (BOYANAPALLI *et al.*, 2018). Em modelo experimental de artrite reumatoide induzida por colágeno, a administração *per os* (p.o.) de curcumina (200 mg/kg), durante três semanas após a indução da artrite, diminuiu o edema de pata, o infiltrado inflamatório, a hiperplasia sinovial e as concentrações aumentadas de IL-1 β , TNF- α e das metaloproteinases MMP-1 e MMP-3 (DAI *et al.*, 2018). Em camundongos, a administração intraplantar de curcumina, nas doses de 50-200 mg/kg, reduziu o edema de pata induzido por carragenina (JURENKA, 2009).

A curcumina inibe os fatores de transcrição nuclear (NF- κ B e AP-1), resultando na redução da produção de interleucinas e quimiocinas envolvidas na resposta inflamatória, tais como TNF- α , IFN- γ , IL-6 e MCP-1 (AGGARWAL & HARTKUMAR, 2009; PRASAD *et al.*, 2014; SANTIAGO *et al.*, 2015; KARIMIAN *et al.*, 2017).

Apesar das atividades altamente promissoras da curcumina que a tornam um candidato a fármaco no manejo de pacientes com doenças inflamatórias, sua baixa biodisponibilidade decorrente da baixa solubilidade aquosa, má absorção e rápido metabolismo e eliminação sistêmica; compromete sua eficácia (AGGARWAL & HARIKUMAR, 2009; PRASAD *et al.*, 2014). Desse modo, acontecem pesquisas que visam ao desenvolvimento e à avaliação das atividades de análogos de curcumina, os quais apresentam uma ampla possibilidade de aplicações terapêuticas. Alguns dos análogos de curcumina apresentam atividades biológicas importantes semelhantes ou mesmo superiores àquelas da curcumina, o que justifica o crescente interesse nessa linha de investigação (KHAN *et al.*, 2012; SANTIAGO *et al.*, 2015).

A atividade de análogos da curcumina (Figura 2) foi demonstrada em diferentes modelos experimentais, incluindo resposta nociceptiva induzida pelo formaldeído, edema de pata induzido por carragenina, contorção abdominal induzida por ácido acético, periodontite induzida por LPS e associada a diabetes, artrite induzida por adjuvante completo de Freund (CFA) e lesão pulmonar aguda induzida por LPS (WANG *et al.*, 2012; ELBURKI *et al.*, 2017; QIAN *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019). Alguns ensaios pré-clínicos investigaram os possíveis mecanismos de ação que poderiam ajudar a

compreender as atividades acima descritas. Diversos análogos da curcumina, como derivados carbonílicos, piperidínicos e da diarilpentadienona, inibem a atividade de NF- κ B e a produção de mediadores inflamatórios como TNF- α , IL-6 IL-1 β , PGE2 e NO (ZHANG *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2017; XIE *et al.*, 2017; JOSEPH *et al.*, 2018; BISWAS *et al.*, 2019).

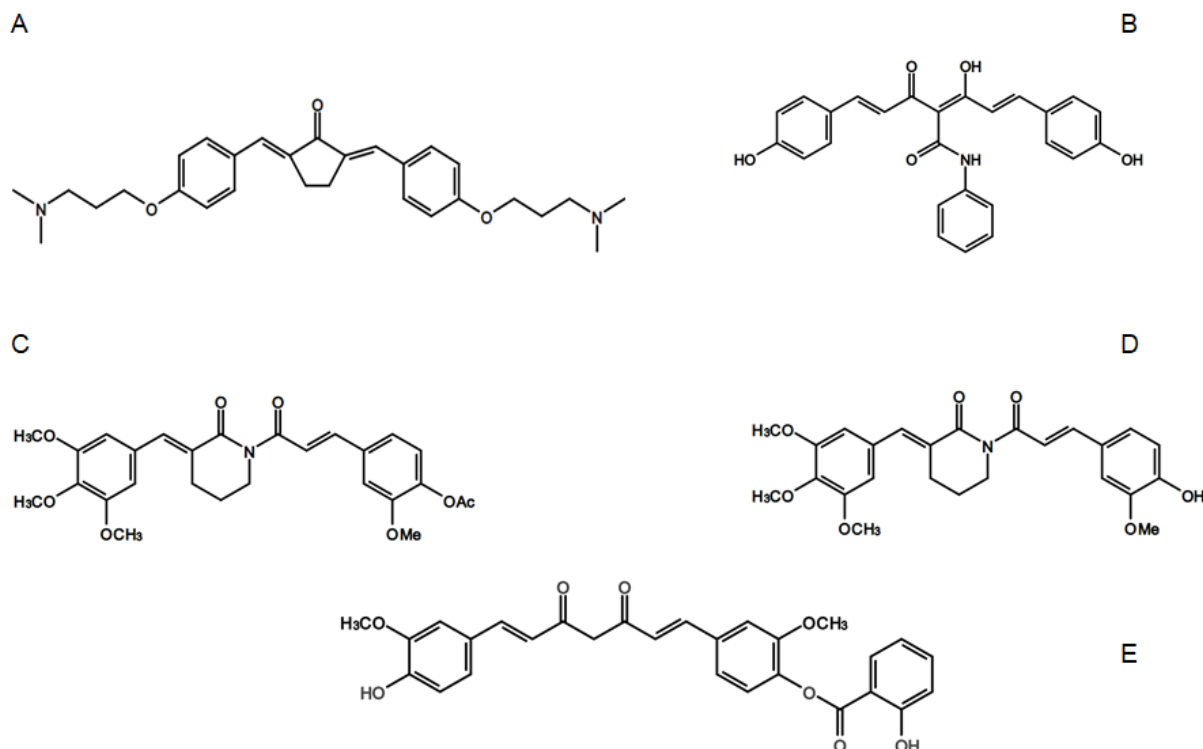


Figura 2 Exemplos de análogos da curcumina utilizados em modelos de inflamação. (A) A13 ((2E, 5E) -2,5-bis (4- (3-(dimetilamino) -propoxi) benzilideno) ciclopentanona; WANG *et al.*, 2012). (B) CMC 2.24 (4-fenilaminocarbonil bis-desmetoxi curcumina; ZHANG *et al.*, 2012. Adaptado). (C) 2-Metoxi-4-((E)- 3-oxo-3 -[(E)-2-oxo-3- (3,4,5-trimetoxibenzilideno) piperidina-1-il] prop-1-en-1 acetato de -il] fenil; QIAN *et al.*, 2019. Adaptado). (D) 5a28 ((E) -1 - [(E) -3- (4-hidroxi-3-metoxifenil) acril] -3- (3,4,5-trimetoxibenzilideno) piperidin-2-ona; QIAN *et al.*, 2019. Adaptado). (E) FM0807 (salicilato de curcumina monoéster; ZHANG *et al.*, 2019. Adaptado).

Em um modelo de colite induzida por ácido trinitrobenzenosulfônico em ratos, análogos sintéticos da curcumina denominados curcuminoides de Mannich, quando administrados *p.o.* na dose de 40 mg/kg, reduziram as lesões hemorrágicas, o infiltrado inflamatório e a atividade da mieloperoxidase (MPO) (SZE BENI *et al.*, 2019). Lee e colaboradores (2013) sintetizaram o análogo da curcumina KMS4034 ((E, E) -4,6-bis [3'-(metoximetoxi) -4' - (N, N-dimetilamino) estiril] pirimidina) e avaliaram a sua atividade em modelos de dor nociceptiva induzida por calor e dor neuropática induzida por constrição crônica do nervo

isquiático em camundongos. Observou-se que o tratamento com o análogo KMS4034 aumentou o tempo de latência da retirada de pata e o limiar mecânico. Outros estudos demonstraram que derivados da curcumina podem apresentar atividade superior à dos anti-inflamatórios conhecidos. O composto análogo da curcumina denominado 2,2'-diOAc-DBM, derivado do dibenzoilmetano, foi avaliado em modelo de edema de orelha induzido por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA). Os resultados demonstraram que a aplicação tópica do análogo da curcumina inibiu em 80% a formação do edema, sendo esse efeito anti-inflamatório superior ao induzido pela aspirina (LIN *et al.*, 2011).

1.5 Derivados tiazólicos

Os tiazóis são membros dos heterociclos azólicos, entre os quais estão os imidazóis e oxazóis, que possuem uma coloração amarelo claro. Os derivados tiazólicos apresentam diversas atividades biológicas, como anti-inflamatória e antioxidante, entre outras (KASHYAP *et al.*, 2012). Heterociclos tiazólicos estão presentes em alguns fármacos com atividade anti-inflamatória e analgésica, como o meloxicam e a tiamina (Figura 3; FLEISCHMANN *et al.*, 2002; MOALLEM *et al.*, 2008). Atividades anti-inflamatória e antinociceptiva de derivados tiazólicos (Figura 4) em modelos de granuloma e edema de pata induzidos por carragenina ou formalina, foram demonstradas (HOLLA *et al.*, 2003; KUMAR *et al.*, 2007; KALKHAMBKAR *et al.*, 2007).

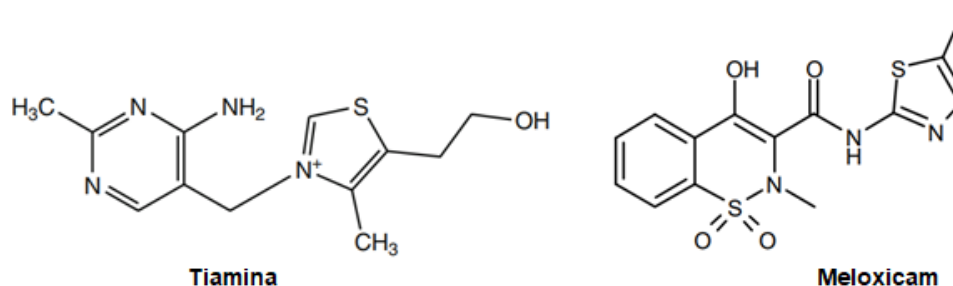


Figura 3 Derivados tiazólicos

Fonte: KASHYAP *et al.*, 2012 ; FLEISCHMANN *et al.*, 2002

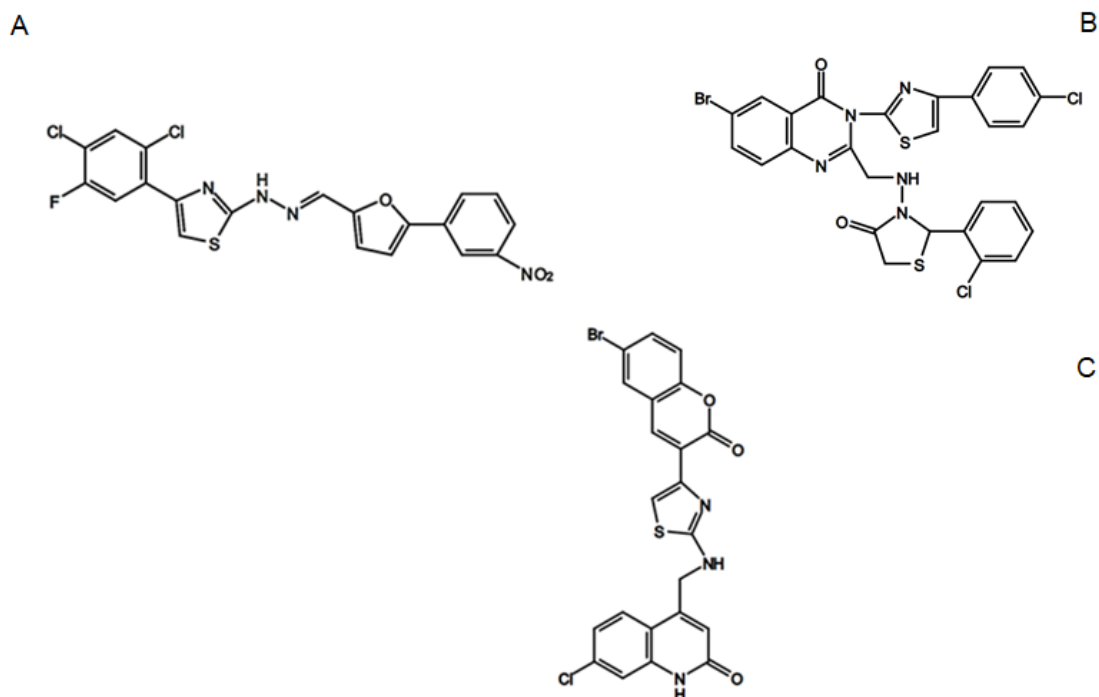


Figura 4 Exemplos de derivados tiazólicos utilizados em modelos de inflamação e dor. (A) 2-(5-Aril-2-furfurilideno-hidrazino)-4-(2,4-dicloro-5-fluoro fenil) tiazol (HOLLA *et al.*, 2003. Adaptado). (B) 2-(4'-Oxo-2'-(*o*-clorofenil)-tiazolidin-3'-il-aminometil)-3-[4'-(*p*-clorofenil)-tiazol-2'-il]-6-bromoquinazolin-4-ona (KUMAR *et al.*, 2007. Adaptado). (C) 4-[[4-(6-Bromo-2-oxo-2H-cromen-3-il)-tiazol-2-ilamino]-metil]-6-clorol-1H-quinolina-2-ona (KALKHAMBKAR *et al.*, 2007. Adaptado).

Em estudo conduzido por AN e colaboradores (2014), foi demonstrada a atividade antioxidante de compostos hidrazino-tiazólicos, derivados do tiazol 2,4-dissubstituídos, em linhagens celulares de adenocarcinoma de mama humano, carcinoma de cólon e adenocarcinoma de pulmão humano. As EROS, ao modularem as vias de sinalização envolvidas em processos inflamatórios, contribuem para o desenvolvimento da sensibilização dos nociceptores, o que pode justificar atenuação de processos dolorosos e/ou inflamatórios por substâncias antioxidantes (SINGH & VINAYAK, 2017).

Lino e colaboradores (2018) sintetizaram e avaliaram a atividade antifúngica de uma série de derivados tiazólicos. Entre os derivados sintetizados está o composto (2E,3E)-3-buten-2-ona-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-(4-metoxifenil)-2-tiazolil)hidrazona (RI75; Figura 5), um análogo da curcumina, que possui uma porção hidrazino-tiazólico. Embora alguns estudos tenham investigado as atividades anti-inflamatória e antinociceptiva de

análogos da curcumina, não há estudos que demonstrem essas atividades para o referido composto.

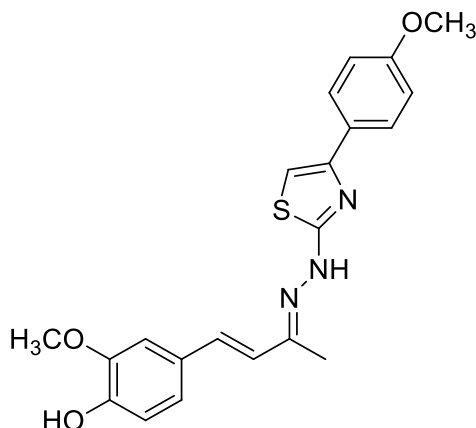


Figura 5 Estrutura química do RI75

Fonte: Lino *et al.*, 2018 (Adaptado)

Logo, a investigação dos efeitos induzidos pelo RI75 em modelos de dor e inflamação proporcionará mais conhecimento sobre as suas atividades e os possíveis mecanismos de ação, bem como permitirá avaliar se essa substância pode ser promissora como um candidato a fármaco anti-inflamatório ou analgésico. Assim, no presente estudo, investigamos os efeitos induzidos pelo RI75 em diferentes modelos de dor e inflamação.

2. JUSTIFICATIVA

Os fármacos disponíveis para o tratamento de pacientes com condições inflamatórias e dolorosas ainda apresentam limitações como eficácia reduzida ou segurança inadequada, principalmente durante o manejo de pacientes com doenças crônicas. Visando à redução dessas limitações, plantas medicinais se apresentam como fontes importantes para a identificação de novas substâncias biologicamente ativas e que podem se tornar novas alternativas para o tratamento de pacientes com diversas condições patológicas (CASTILHO & BRAGA, 2011). Assim, estudos têm sido desenvolvidos a fim de avaliar a atividade da curcumina, um importante componente da cúrcuma, devido às suas propriedades anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana e antialérgica, entre outras. Entretanto, a baixa biodisponibilidade da curcumina compromete sua eficácia. Diante das diversas propriedades biológicas da curcumina, a

modificação da sua estrutura química torna-se importante no contexto do desenvolvimento de novos candidatos a fármacos. Dessa maneira, o interesse em investigar as atividades anti-inflamatória e antinociceptiva do análogo da curcumina (RI75) é plenamente justificado.

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade do análogo da curcumina RI75 em modelos de dor e inflamação.

3.1 Objetivos específicos

- Determinar os efeitos induzidos pelo análogo da curcumina RI75 em modelos de dores nociceptiva, inflamatória e neuropática e de inflamação;
- Investigar os mecanismos envolvidos nos modelos de dor e avaliar os efeitos induzidos por RI75 em níveis de mediadores inflamatórios.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Para a realização dos protocolos experimentais, foram utilizados camundongos Swiss machos (25 a 30 g) provenientes do Biotério da Faculdade de Farmácia da UFMG. Os animais foram mantidos em ciclo claro-escuro de 12 h e em sala com temperatura controlada de 27 ± 1 °C, a qual corresponde à zona de termoneutralidade para roedores (GORDON, 1990). Ração e água foram fornecidas *ad libitum*. Os animais foram ambientados na sala de experimentação por pelo menos dois dias antes da realização dos experimentos. Após o término destes, os animais foram anestesiados com uma injeção i.p. de uma solução contendo cetamina (90 mg/kg) e xilazina (9 mg/kg) e, submetidos à eutanásia por deslocamento cervical ou em câmara de CO₂. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG (CEUA/UFMG) sob o número de protocolo 345/2017. Todos os experimentos

foram realizados de acordo com as recomendações para experimentação relacionada à dor em animais (ZIMMERMANN, 1983).

4.2 Fármacos, reagentes e veículos

- Ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA; Sigma-Aldrich, EUA) - Reagente para preparo da solução de extração de citocinas
- Ácido sulfúrico (Merck, Alemanha) – reagente para preparo da solução de parada para reação colorimétrica no ensaio de ELISA.
- Albumina sérica bovina (BSA; Sigma-Aldrich, EUA) - Reagente para preparo da solução de extração de citocinas e tampão de bloqueio no ensaio de ELISA.
- Aprotinina (Sigma-Aldrich, EUA) – Reagente para preparo de solução de extração de citocinas.
- Carboximetilcelulose (CMC) (Sigma-Aldrich, EUA) – Veículo.
- Carragenina λ tipo IV (Sigma-Aldrich, EUA) - Estímulo nocivo/inflamatório.
- Cloreto de benzalcônio (Sigma-Aldrich, EUA) - Reagente para preparo de solução de extração de citocinas.
- Cloreto de sódio 0,9% p/v injetável (Equiplex, Brasil) - Veículo
- Cloreto de sódio 0,1, 0,2, 1,6% (Equiplex, Brasil)- Reagente utilizado na avaliação da atividade de MPO.
- Cloridrato de cetamina (União Química, Brasil) - Anestésico.
- Cloridrato de ciproheptadina (Sigma-Aldrich, EUA) - Antagonista serotoninérgico.
- Cloridrato de naltrexona (Sigma-Aldrich, EUA) - Antagonista opioidérgico.
- Cloridrato de xilazina (União Química, Brasil) - Coadjuvante de anestesia.
- Curcumina; (Laboratório de Química Farmacêutica, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, UFMG) – Composto avaliado nos modelos de dor e inflamação.

- Dexametasona 21-fosfato dissódico (Sigma-Aldrich, EUA) – Fármaco anti-inflamatório.
- Dimetilsulfóxido (DMSO; Sigma-Aldrich, EUA) – Veículo para preparo da solução de extração de citocinas.
- Dipirona sódica (Sanofi Aventis, Brasil) – Fármaco analgésico.
- Fenobarbital (Sanofi Aventis, Brasil) - Fármaco depressor do sistema nervoso central (SNC).
- Fosfato trissódico (Na_3PO_4) 0,05 M (Sigma-Aldrich, EUA) - Reagente utilizado na avaliação da atividade da MPO.
- Fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF; Sigma-Aldrich, EUA) - Reagente para preparo da solução de extração de citocinas.
- Glibenclamida (Sigma-Aldrich, EUA) - Bloqueador de canais K_{ATP} .
- Ortofenilenodiamina (Sigma, EUA) - Reagente para preparo da solução do substrato no ensaio de ELISA.
- Paclitaxel (Sigma, EUA) - Fármaco antineoplásico.
- Peróxido de hidrogênio (Synth, Brasil) - Reagente para preparo da solução do substrato no ensaio de ELISA.
- Pregabalina (Teuto, Brasil) - Fármaco anticonvulsivante.
- RI75 - (Laboratório de Química Farmacêutica, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, UFMG) – análogo da curcumina avaliado nos modelos de dor e inflamação.
- Salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7,2 – reagente utilizado no ensaio de ELISA.
- Tween 20 (Sigma, EUA) - reagente utilizado no ensaio de ELISA.

4.3 Preparo das soluções e suspensões, vias de administração e doses utilizadas

4.3.1 RI75, curcumina e pregabalina

As suspensões de RI75, curcumina e pregabalina foram preparadas em suspensão de CMC 0,5% p/v. Foram utilizadas doses de 10, 20 e 40 mg/kg de

RI75, 40 mg/kg de curcumina e 30 mg/kg de pregabalina, administradas por via intraperitoneal (i.p.), em volume de 10 mL/kg.

4.3.2 Preparo da suspensão de carragenina

A suspensão de carragenina 2% foi preparada em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v no dia anterior ao experimento e armazenada sob refrigeração. Foram administrados 30 µL (600 µg de carragenina) da suspensão por via intraplantar (i.pl.) na pata posterior direita dos camundongos.

4.3.3 Preparo das soluções de dexametasona e dipirona

As soluções de dexametasona e dipirona foram preparadas imediatamente antes de cada administração, em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v. As doses de dipirona e dexametasona foram 500 mg/kg e 2 mg/kg, respectivamente. Ambas foram administradas por via i.p., 30 min antes dos estímulos (inflamatório ou térmico).

4.3.4 Preparo da solução de fenobarbital

A solução de fenobarbital foi preparada pela diluição do medicamento em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v. A dose utilizada foi de 50 mg/kg, administrada *p.o.*, em volume de 8 mL/kg. O fenobarbital foi administrado 30 min antes da avaliação da coordenação motora.

4.3.5 Preparo das soluções de naltrexona, ciproheptadina e glibenclamida

As soluções de naltrexona, ciproheptadina e glibenclamida foram preparadas em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v injetável imediatamente antes da administração. As doses de naltrexona e ciproheptadina foram 5 e 10 mg/Kg, respectivamente. Esses antagonistas foram administrados por via i.p. em volume de 4 mL/Kg. A glibenclamida foi administrada *p.o.*, nas doses de 20 e 40 mg/Kg, em volume de 8 mL/Kg.

4.3.6 Preparo da solução de paclitaxel

O paclitaxel foi devidamente pesado sob capela de fluxo laminar em ocasião anterior ao preparo das soluções, seguindo as normas preconizadas para o manuseio de agentes antineoplásicos, como uso de capote, luvas de látex e máscara. A solução de paclitaxel foi preparada em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v injetável imediatamente antes de cada administração. O paclitaxel foi administrado por via i.p. em volume de 2 mL/kg. A dose padronizada foi de 2 mg/Kg.dia, administrada durante quatro dias (dose cumulativa de 8 mg/kg).

4.4 Avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a resposta nociceptiva induzida por calor

A nocicepção induzida por calor foi avaliada no equipamento placa quente (Insight Ltda, Ribeirão Preto, Brasil). Os animais foram previamente ambientados à superfície não aquecida da placa metálica durante 2 min por dia, nos três dias anteriores ao experimento. A divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de modo que as massas corporais médias dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes. No momento do teste, os camundongos foram colocados, individualmente, sobre a placa aquecida na temperatura estabelecida e o tempo para que os animais exibissem comportamentos indicativos de desconforto (lambida das patas ou saltos) foi determinado e considerado como a latência para a resposta nociceptiva. A temperatura utilizada foi 50 °C e o tempo de corte foi de 50 s, a fim de evitar a ocorrência de lesão tecidual. Foram administrados RI75 (10, 20 ou 40 mg/kg, i.p.), curcumina (40 mg/kg, i.p.), dipirona (500 mg/kg, i.p.) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg, i.p.), 30 min antes da avaliação da latência para a resposta nociceptiva (Figura 6).

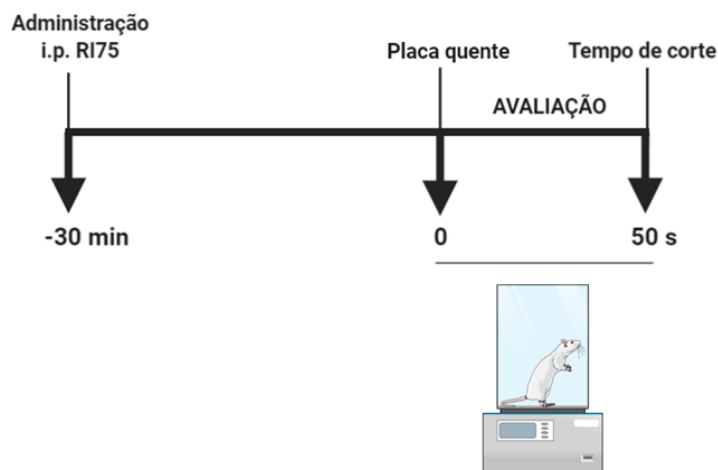


Figura 6 Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a nocicepção induzida por calor.

Fonte: Mind The Graph, 2020.

4.5 Avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina

A alodínia mecânica foi medida por meio do uso de um analgesímetro digital (Modelo EFF 301, Insight, Brasil). Os camundongos foram colocados em compartimentos de acrílico (22 x 18 x 14 cm) dispostos sobre um suporte que possui como base uma tela metálica. Os animais foram ambientados ao aparato experimental diariamente, aproximadamente 60 min por dia, durante dois dias antes dos experimentos. Um transdutor de força manual (faixa: 0,1 a 1000 g, ou aproximadamente 0,1 a 10 N), equipado com uma ponta de polietileno (0,5 mm de diâmetro), foi gradualmente pressionado sobre a superfície plantar da pata direita posterior, até que o animal retirasse a pata. O valor indicando a pressão que fez com que o animal removesse a pata foi registrado automaticamente.

O limiar de retirada da pata foi determinado pela média de cinco avaliações em intervalos de 20 s, descartando-se o maior e o menor valor e calculando-se o limiar nociceptivo como a média das três medidas restantes. No dia do experimento, o limiar de retirada da pata de cada animal foi determinado e a divisão dos grupos experimentais foi feita de maneira que as massas corporais dos animais e limiares dos diferentes grupos fossem semelhantes. No dia do experimento, a carragenina (600 µg, 30 µL) foi

administrada por via i.p. 30 min após a administração i.p. de RI75 (10, 20 ou 40 mg/kg), curcumina (40 mg/kg), dexametasona (2 mg/kg) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg). O limiar de retirada da pata de cada animal foi novamente medido às 2, 4, 6 e 24 h após a injeção de carragenina (Figura 7).

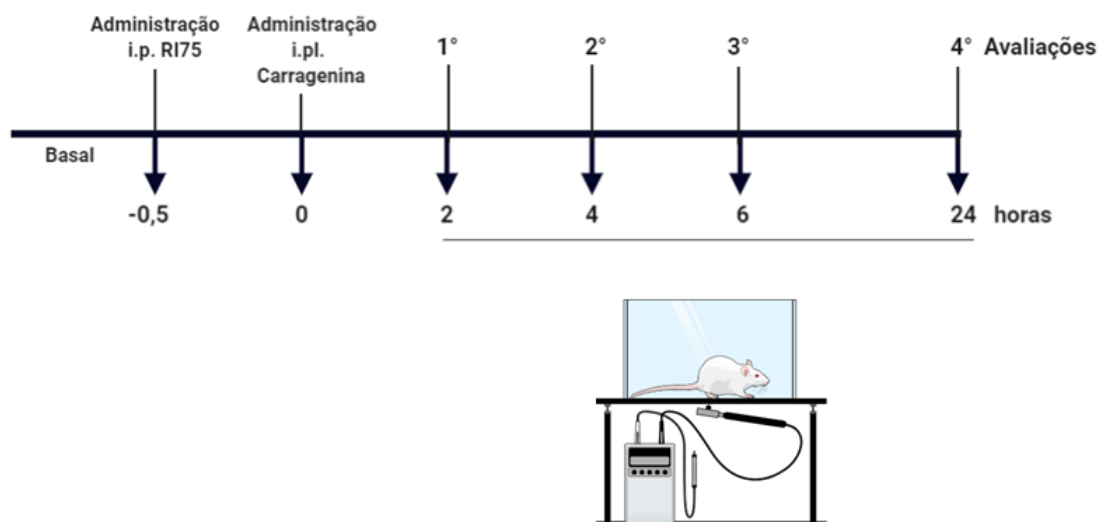


Figura 7 Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina.

Fonte: Mind The Graph, 2020.

4.6 Avaliação dos efeitos induzidos por naltrexona, ciproheptadina e glibenclamida sobre a atividade do RI75 no modelo de alodínia mecânica induzida por carragenina

Com o objetivo de avaliar os possíveis mecanismos envolvidos na atividade antinociceptiva do RI75 no modelo de alodínia mecânica induzida por carragenina, foram utilizados antagonistas opioidérgico (naltrexona) e serotoninérgico (ciproheptadina) e um bloqueador para canais K_{ATP} (glibenclamida). A naltrexona (5 e 10 mg/kg) e a ciproheptadina (5 e 10 mg/kg,) foram administradas por via i.p. em volume de 4 mL/kg, enquanto a glibenclamida foi administrada *p.o.*, em volume de 8 mL/kg, 30 min antes da administração do RI75 (40 mg/kg). A carragenina (600 μ g, 30 μ L) foi injetada por via i.pl. 30 min após a administração do análogo e a alodínia mecânica foi avaliada 2, 4 e 6 h após a administração do estímulo inflamatório (Figura 8).

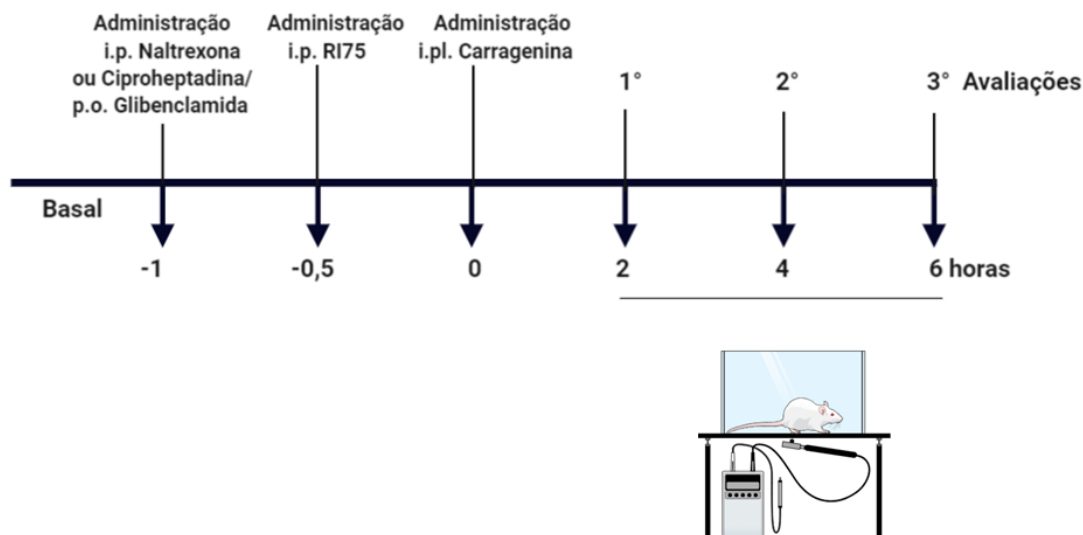


Figura 8 Escala temporal da avaliação dos efeitos induzidos pelo RI75, após tratamento prévio com naltrexona, ciproheptadina ou glibenclamida, sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina.

Fonte: Mind The Graph, 2020.

4.7 Avaliação do efeito induzido pelo RI75 no modelo de dor neuropática induzida pelo paclitaxel

Inicialmente, foi realizada a indução do modelo de dor neuropática induzida pelo paclitaxel, sendo utilizados dois grupos (controle e paclitaxel). Foi feita a avaliação dos valores basais de retirada de pata dos animais, conforme descrito na seção 4.2. A divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que as massas corporais e os limiares basais médios dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes. Em seguida, foram realizadas quatro administrações i.p. de paclitaxel 2 mg/kg.dia (dose cumulativa 8 mg/kg) ou veículo (cloreto de sódio 0,9%, 2 mL/kg) em dias alternados (0, 2, 4 e 6 dias). O limiar de retirada da pata foi avaliado a cada dois dias, durante 14 dias (Figura 9). No 14º dia de sensibilização com o quimioterápico, os animais foram tratados com RI75 (40 mg/kg), curcumina (40 mg/kg), pregabalina (30 mg/kg) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg) por via i.p. O limiar de retirada da pata foi avaliado 2, 4, 6 e 24 h após os tratamentos.

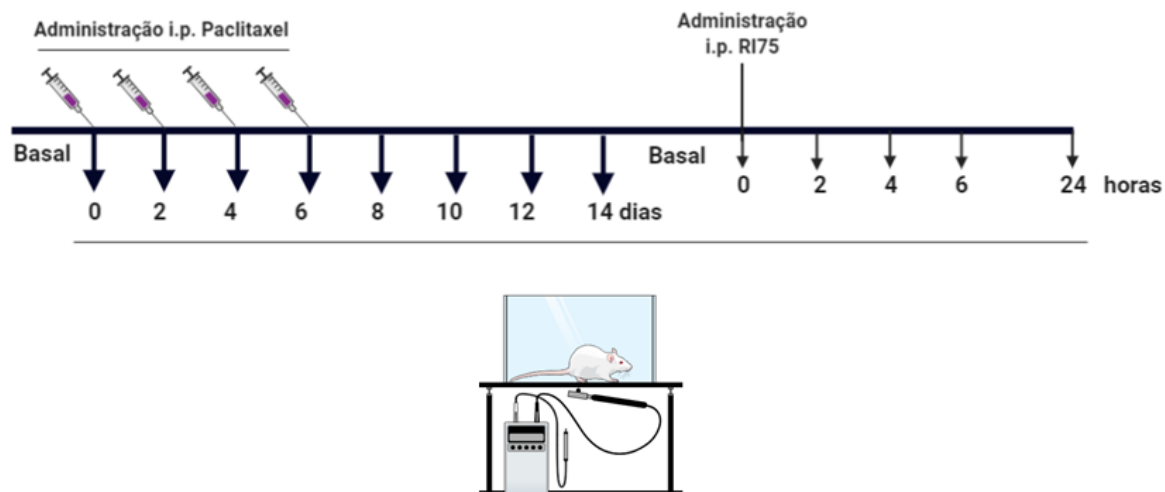


Figura 9 Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a alodinia mecânica induzida por paclitaxel.

Fonte: Mind The Graph, 2020.

4.8 Avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre a coordenação motora

A coordenação motora foi avaliada em um aparato de haste girante (2,3 cm de diâmetro, 14 rpm). Os animais foram treinados no aparelho durante 120 s por dia, durante três dias antes do experimento. A divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que os tempos de permanência basais médios dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes. O tempo de corte foi de 120 s. Após determinação dos tempos de permanência basais, RI75 (40 mg/kg, i.p.), curcumina (40 mg/kg, i.p.), fenobarbital (50 mg/kg, p.o.) ou veículo (CMC 0,5%, i.p.) foram administrados. Os animais foram testados novamente no aparato 0,5, 2, 4 e 6 h após os tratamentos (Figura 10). Os resultados foram expressos como tempo (s) de permanência na haste girante.

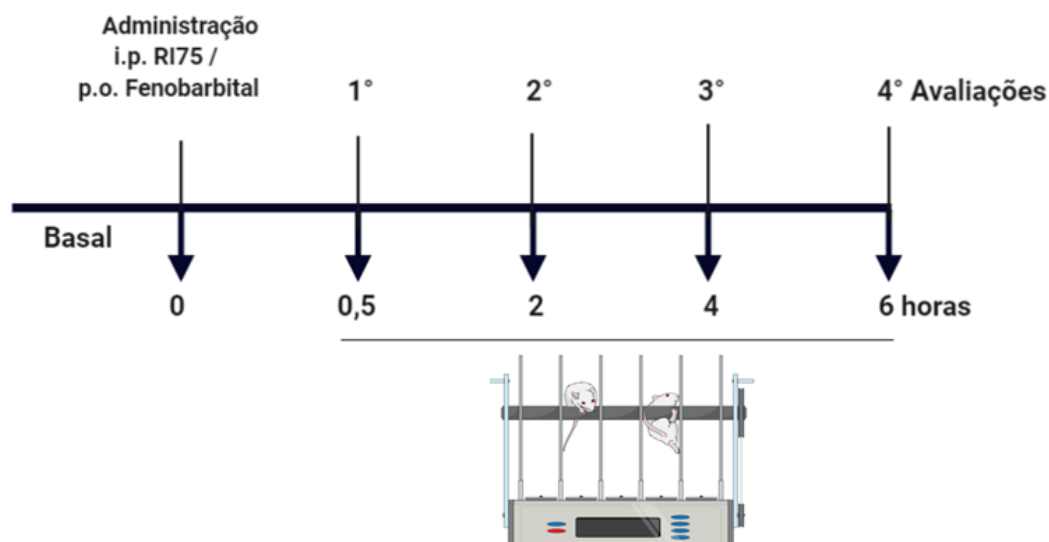


Figura 10 Escala temporal da avaliação dos efeitos induzido pelo RI75 ou fenobarbital sobre a coordenação motora.

Fonte: Mind The Graph, 2020.

4.9 Avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre o edema de pata induzido por carragenina

O edema de pata foi avaliado por meio do uso de um pletismômetro (Modelo 7140, Ugo Basile, Itália). Esse aparelho contém uma célula cilíndrica para a medida do volume de pata, preenchida com uma solução de baixa concentração eletrolítica, conectada a outra célula, dentro da qual existe um eletrodo. Um sistema de vasos comunicantes faz com que o deslocamento da solução eletrolítica na célula onde a pata do animal é mergulhada resulte em um deslocamento da solução na célula que contém o eletrodo. Após ter sido calibrado, o aparelho converte o deslocamento do líquido em volume, que é indicado em um visor digital. Quando a pata do animal é introduzida na célula de medida até a articulação tíbio-tarsal, um pedal é pressionado pelo experimentador, que fixa o valor do volume observado.

O volume de pata basal de cada animal foi medido no dia anterior ao experimento e a divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que as massas corporais e os volumes de pata basais médios dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes. No dia do experimento, a carragenina (600 µg, 30 µL) foi administrada por via i.pl. 30 min após a

administração de RI75 (10, 20 ou 40 mg/kg, i.p.), curcumina (40 mg/kg, i.p.), dexametasona (2 mg/kg, i.p.) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg).

O volume da pata foi avaliado 2, 4, 6 ou 24 h após a injeção do estímulo inflamatório (Figura 11).

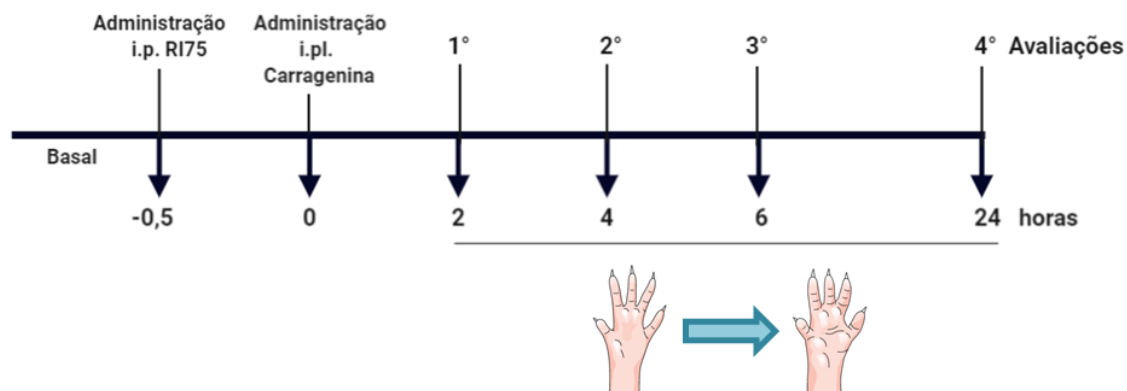


Figura 11 Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelo RI75 sobre o edema de pata induzido por carragenina.

Fonte: Mind The Graph, 2020.

4.10 Determinação das concentrações de TNF- α e IL-6

As concentrações de TNF- α e IL-6 na pata foram determinadas por meio de um ensaio imunoenzimático (ELISA), seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante (kits DuoSet, R&D Systems, Minneapolis, EUA). Para investigar o efeito induzido pelo RI75 sobre a produção de TNF- α e IL-6 no modelo experimental de inflamação aguda induzida pela carragenina, os animais foram pré-tratados com RI75 (40 mg/kg, i.p.), curcumina (40 mg/kg, i.p.) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg), 30 min antes da administração de carragenina (600 μ g, 30 μ l, i.pl.). Os camundongos foram anestesiados com uma injeção i.p. de uma solução contendo cetamina e xilazina e posteriormente submetidos à eutanásia, por deslocamento cervical, 4 h após a administração do análogo de curcumina, sendo a pata ipsilateral removida. Após determinação das massas, foi realizada a homogeneização dos tecidos em PBS contendo Tween-20 (0,05%), fluoreto de fenilmetilsulfonil (0,1 mM), cloreto de benzametônio (0,1 mM), EDTA (10 mM), aprotinina A (2 mg/mL) e BSA (0,5%), seguida de centrifugação (10.000 rpm) durante 15 min a 4 °C. As amostras de

sobrenadante foram armazenadas a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a análise das concentrações de TNF- α e IL-6.

O ensaio foi realizado em placa de microtitulação de 96 poços. O anticorpo de captura foi diluído em PBS e foram adicionados 50 μL dessa solução em cada poço. A placa foi mantida na geladeira ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 12 h. Posteriormente, a placa foi lavada com tampão de lavagem e bloqueada com tampão de bloqueio (BSA 1%). Após 1 h, a placa foi lavada novamente e foram adicionados 50 μL de TNF- α ou IL-6 (duplicata), em diluição seriada, correspondentes à curva-padrão, nas duas primeiras colunas da placa. Nos outros poços, foram adicionados 50 μL dos sobrenadantes e nos últimos dois poços, foram adicionados 50 μL de PBS (branco). A placa foi devidamente vedada e armazenada na geladeira ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 12 h.

Em seguida, a placa foi lavada e foram adicionados 50 μL do anticorpo de detecção em cada poço. A placa foi vedada e mantida em temperatura ambiente por 2 h. Após esse período, a placa foi lavada e foram adicionados 50 μL do revelador estreptavidina em cada poço e, durante 20 min, a placa foi mantida, novamente, em temperatura ambiente. Finalmente, foram adicionados 50 μL da solução do substrato ortofenilenodiamina em cada poço. A reação foi devidamente monitorada e, com aparecimento de coloração amarelada (20 a 30 min), a reação foi interrompida com a adição de 25 μL de H_2SO_4 . A leitura foi feita no leitor de ELISA, usando comprimento de onda de 450 nm. Os resultados foram expressos em picogramas de citocinas por 100 mg do material coletado.

4.11 Avaliação da atividade da MPO

Ao sedimento obtido após centrifugação do tecido homogeneizado (seção 4.10), foram adicionados 500 μL de solução de cloreto de sódio 0,1 M gelado, seguida de centrifugação durante 15 min a 10.000 rpm a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, foram adicionadas soluções de cloreto de sódio 0,2% e cloreto de sódio 1,6% com glicose 5%. Novas homogeneizações e centrifugações foram realizadas. O sobrenadante foi desprezado e foi adicionada ao precipitado a solução de Na_3PO_4 0,05 M. As amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e descongeladas em temperatura ambiente, por três vezes.

Após esses ciclos, os homogenatos foram centrifugadas por 15 min a 10.000 rpm a 4 °C e os sobrenadantes obtidos foram coletados para a realização do ensaio enzimático. O ensaio foi realizado em placa de microtitulação de 96 poços. Nos primeiros dois poços, foram adicionados 25 µL de tampão PBS (branco). Nos outros poços, foram adicionados, em duplicata, 25 µL dos sobrenadantes diluídos (1:3). Após o preenchimento da placa com todas as amostras, foram adicionados 25 µL da solução de 3,3',5,5',-tetrametilbenzidina (3,8 mg/mL em DMSO) em cada poço e a placa foi incubada a 37 °C por 5 min. Após esse intervalo, foram adicionados 100 µL da solução de H₂O₂ em cada poço e a placa foi incubada novamente a 37 °C por 5 min. Para finalizar, foram adicionados 100 µL de H₂SO₄ em cada poço. A atividade da MPO foi calculada de acordo com a alteração da densidade óptica, avaliada em leitor de ELISA, usando comprimento de onda de 450 nm.

4.12 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média. Os resultados referentes aos modelos de avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor, quantificação de citocinas e atividade da MPO foram analisados por meio da análise de variância simples de uma via (ANOVA), seguido pelo teste de Newman-Keuls. Os resultados referentes aos modelos de alodínia mecânica e edema de pata induzidos por carragenina, alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel e atividade motora foram analisados por meio de análise de variância de duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni. Adotou-se um nível de significância de 5% em relação ao grupo controle.

5. RESULTADOS

5.1 Efeito induzido pelo RI75 sobre a resposta nociceptiva induzida por calor

A resposta nociceptiva induzida por calor foi avaliada por meio da determinação da latência para os animais apresentarem comportamento nociceptivo. As respostas comportamentais após a exposição à placa quente

incluíam a lambida das patas anteriores ou posteriores, bem como saltos. O grupo controle teve uma latência média de aproximadamente 13 s. O RI75, nas doses de 10, 20 e 40 mg/kg, assim como a curcumina, na dose de 40 mg/kg, não induziram alterações estatisticamente significativas das latências médias dos animais quando comparados ao veículo. O grupo tratado com dipirona, controle positivo do experimento, teve uma latência média de 27,6 s (Figura 12).

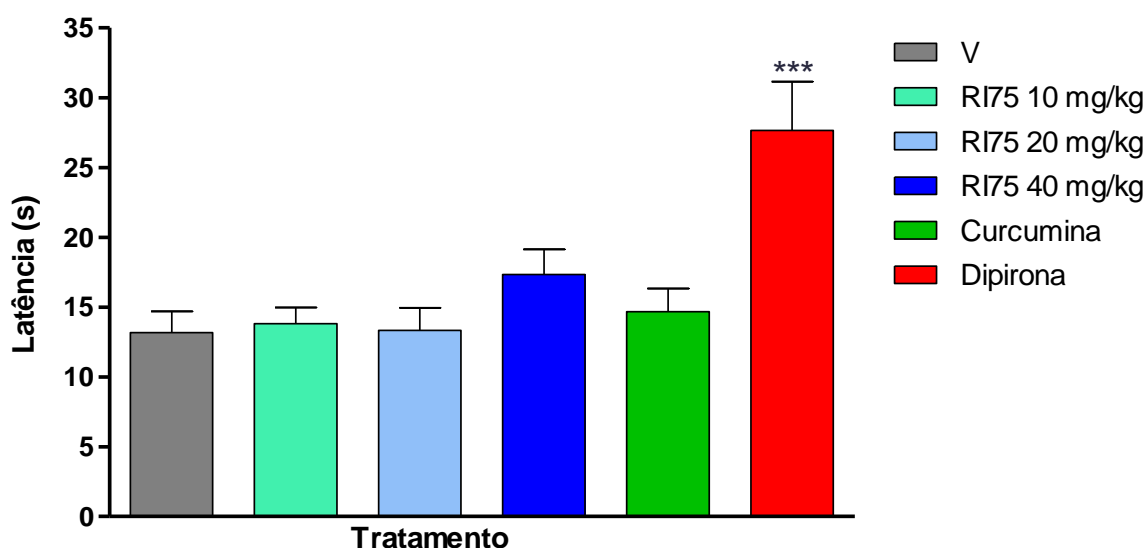


Figura 12 Efeitos induzidos por RI75 (10, 20 e 40 mg/kg, i.p., - 30 min), curcumina (40 mg/kg, i.p., - 30 min), dipirona (500 mg/kg, i.p., - 30 min) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg, i.p., -30min) sobre o tempo de permanência dos camundongos na placa quente (50° C). V= veículo. *** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,001$). n=6.

5.2 Efeito induzido pelo RI75 sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina

A injeção i.pl. de carragenina promoveu uma diminuição acentuada do limiar nociceptivo, que se manteve reduzido durante o período de avaliação (2, 4 e 6 h). A administração i.p. de RI75 (40 mg/kg) ou de curcumina (40 mg/kg) reduziu a alodínia mecânica induzida por carragenina na 2^a, 4^a e 6^a h (Figura 13 A e B). O tratamento dos animais com dexametasona (2 mg/kg, i.p.) atenuou significativamente a alodínia mecânica induzida por carragenina. Uma avaliação global dos resultados, por meio da análise da área sob a curva,

demonstrou que o RI75, nas doses de 10 e 20 mg/kg, também reduziu a alodínia mecânica (Figura 13 B).

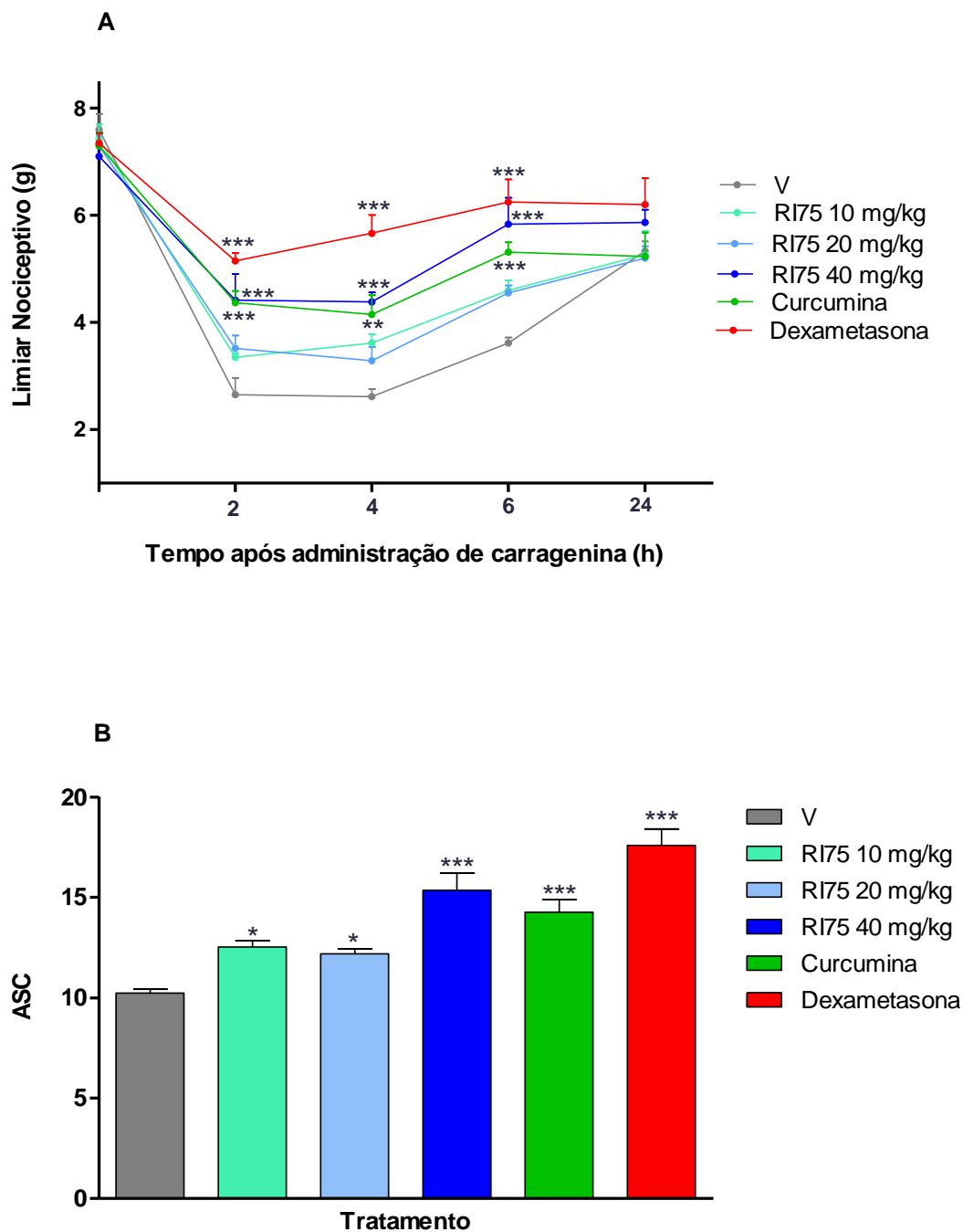


Figura 13 Efeitos induzidos por RI75 (10, 20 ou 40 mg/kg, i.p., - 30 min), curcumina (40 mg/kg, i.p., - 30 min), dexametasona (2 mg/kg, i.p., -30 min) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg, i.p., - 30min) sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina (600 µg, 30 µL, i.pl.). V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle ($p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n=6$.

5.3 Efeitos induzidos por naltrexona, ciproheptadina ou glibenclamida sobre a atividade antialodínica do RI75

Tendo sido demonstrada a atividade antialodínica do RI75 (40 mg/kg), foram investigados possíveis mecanismos envolvidos nessa atividade. Para isso, foram avaliados os efeitos induzidos por naltrexona, ciproheptadina ou glibenclamida sobre a atividade antialodínica do RI75.

A naltrexona, administrada isoladamente na dose de 10 mg/kg, não alterou a alodínia mecânica induzida por carragenina. Essa resposta foi inibida pelo tratamento com RI75. A atividade antialodínica do RI75 foi atenuada pela administração prévia de naltrexona, nas doses de 5 e 10 mg/kg (Figura 14 A). Uma avaliação global também indicou atenuação da atividade antialodínica do RI75 pelo pré-tratamento com naltrexona, na dose de 5 mg/kg (Figura 14 B).

A ciproheptadina, administrada isoladamente na dose de 10 mg/kg, não alterou a alodínia mecânica induzida por carragenina. Essa resposta foi inibida pelo tratamento com RI75. Entretanto, quando houve a administração prévia de ciproheptadina, na dose de 10 mg/kg, a atividade antialodínica do RI75 foi atenuada em todos os momentos da avaliação (2, 4 e 6 h) (Figura 15 A). Uma avaliação global também indicou atenuação da atividade antialodínica do RI75 pelo pré-tratamento com ciproheptadina, na dose de 10 mg/kg (Figura 15 B).

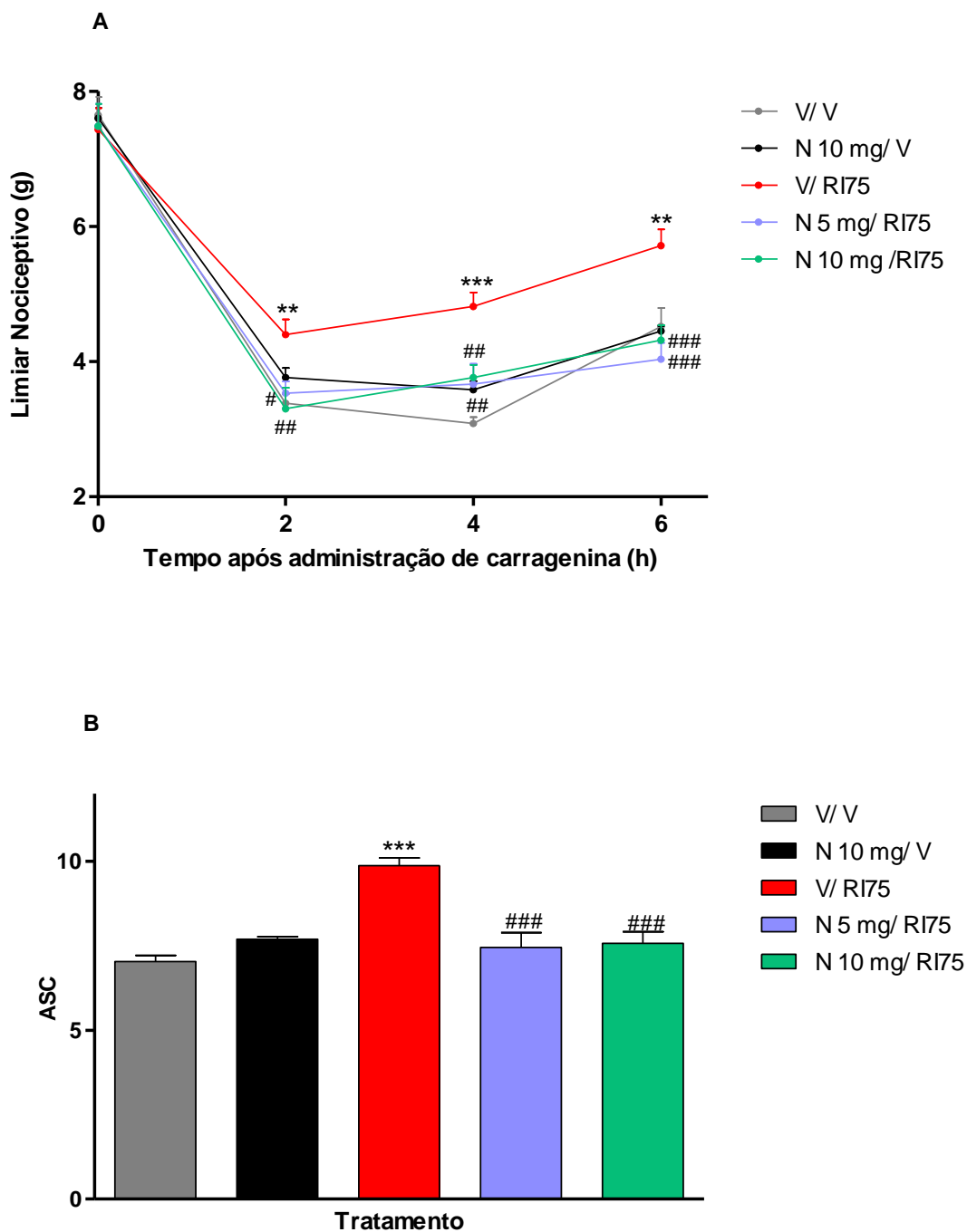


Figura 14 Efeito induzido pela naltrexona (N; 5 ou 10 mg/kg, i.p.) sobre a atividade antialodínica do RI75 (40 mg/kg, i.p.). A naltrexona foi administrada 30 min antes do RI75 e esse foi administrado 30 min antes da carragenina. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). #, ## e ### indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo V/RI75 ($p < 0,005$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$). $n = 6$.

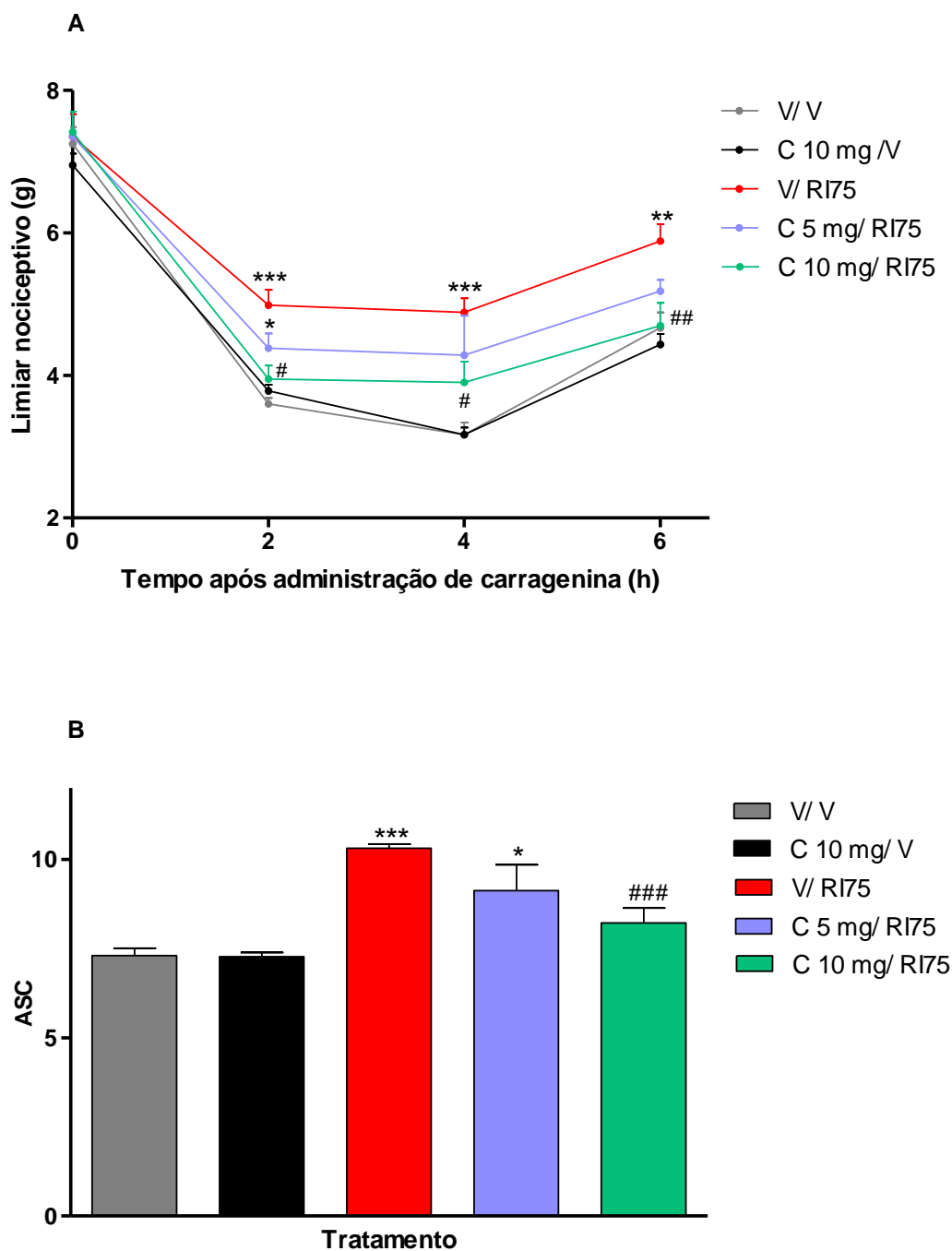


Figura 15 Efeito induzido pela ciproheptadina (C; 5 ou 10 mg/kg, i.p.) sobre a atividade antialodínica do RI75 (40 mg/kg, i.p.). A ciproheptadina foi administrada 30 min antes do RI75 e esse foi administrado 30 min antes da carragenina. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle ($p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). #, ## e ### indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo V/RI75 ($p < 0,005$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$). $n = 6$.

A glibenclamida, administrada isoladamente na dose de 40 mg/kg, não alterou a alodínia mecânica. Essa resposta foi inibida pelo tratamento com

RI75. A atividade antialodínica do RI75 não foi atenuada pela administração prévia de glibenclamida, nas doses de 20 e 40 mg/kg (Figura 16).

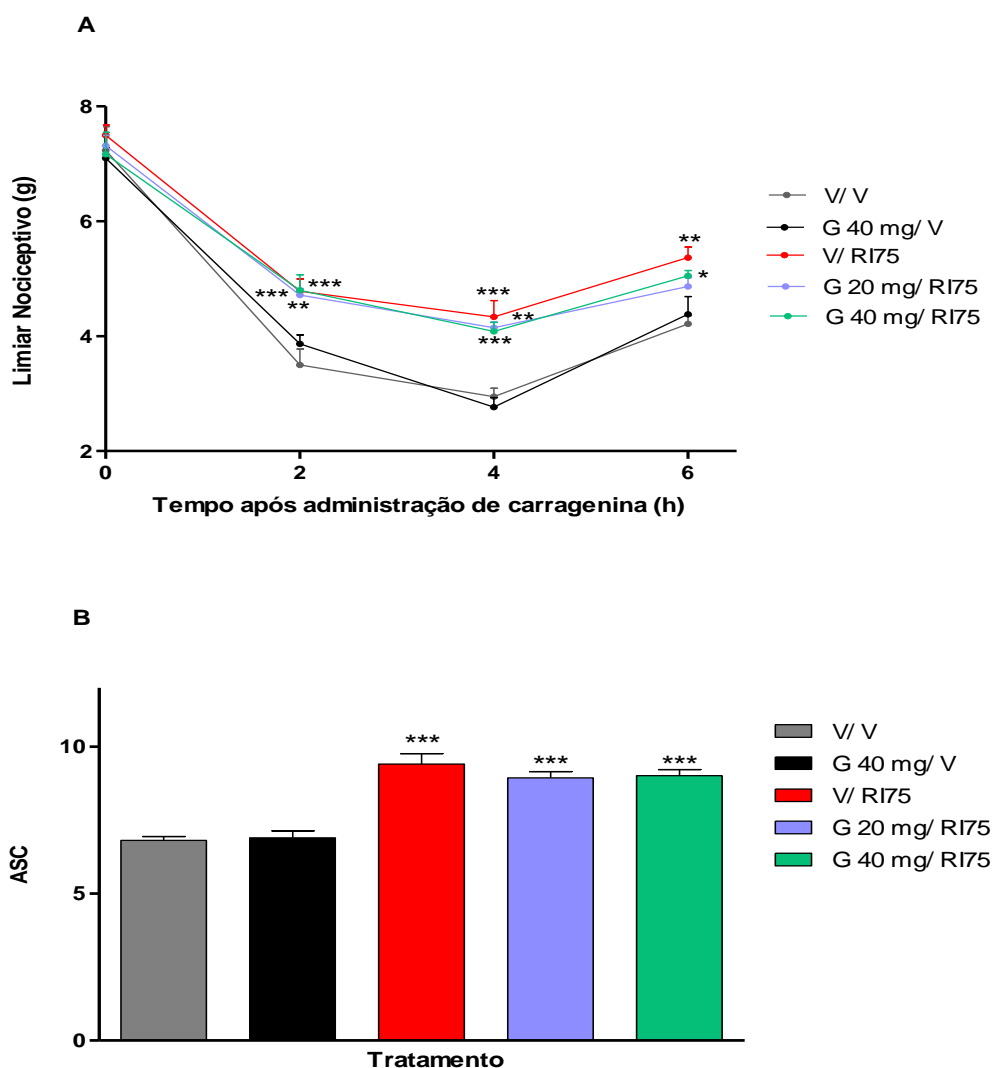


Figura 16 Efeito induzido pela glibenclamida (G; 20 ou 40 mg/kg, *p.o.*) sobre a atividade antialodínica do RI75 (40 mg/kg, *i.p.*). A glibenclamida foi administrada 30 min antes do RI75 e esse foi administrado 30 min antes da carragenina. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo V/RI75 ($p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n=6$.

5.4 Efeito induzido pelo RI75 sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel

Inicialmente, foi realizada a indução do modelo experimental de dor neuropática induzida pelo paclitaxel. O limiar para retirada da pata foi avaliado a cada dois dias, durante 14 dias, após a primeira injeção de paclitaxel (2

mg/kg.dia, i.p.). A alodínia mecânica se estabeleceu dois dias após a primeira administração de paclitaxel e se manteve durante todo o período avaliado. Os animais do grupo controle não apresentaram alterações significativas no limiar nociceptivo (Figura 17).

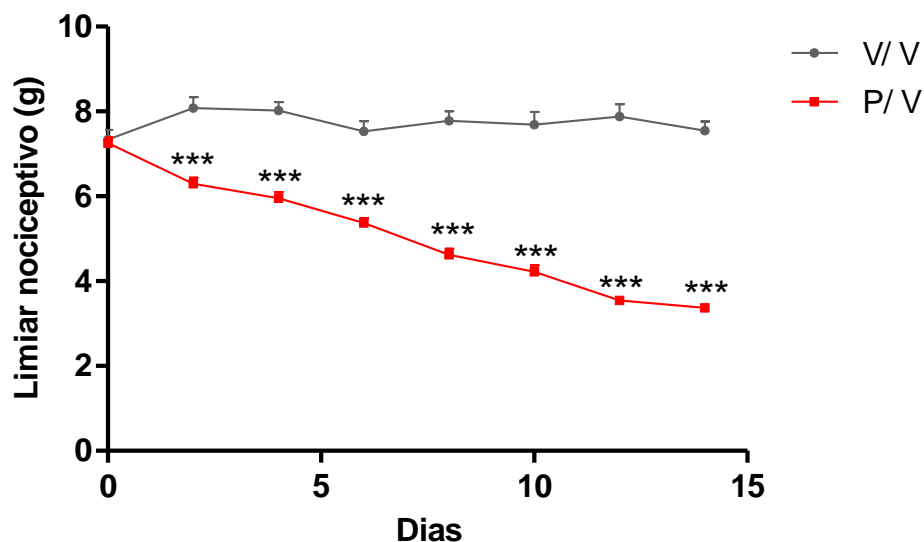


Figura 17 Alodínia mecânica induzida por repetidas administrações de paclitaxel (2 mg/kg.dia, dose cumulativa 8 mg/kg, i.p.) ou veículo (cloreto de sódio 0,9%, 2 mL/kg, i.p.). V= veículo. P= paclitaxel. *** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,001$). $n=6$.

O RI75 (40 mg/kg, i.p.), administrado no 14^o dia após a primeira injeção de paclitaxel, atenuou significativamente a alodínia mecânica, na 2^a, 4^a e 6^a h, assim como a curcumina (40 mg/kg, i.p.; Figura 18 A). O tratamento com pregabalina (30 mg/kg, i.p.) induziu o efeito antinociceptivo em todos os momentos da avaliação. Uma avaliação global indicou redução significativa do limiar nociceptivo nos grupos pré-tratados com RI75, curcumina ou pregabalina, quando comparados com o grupo controle (Figura 18 B).

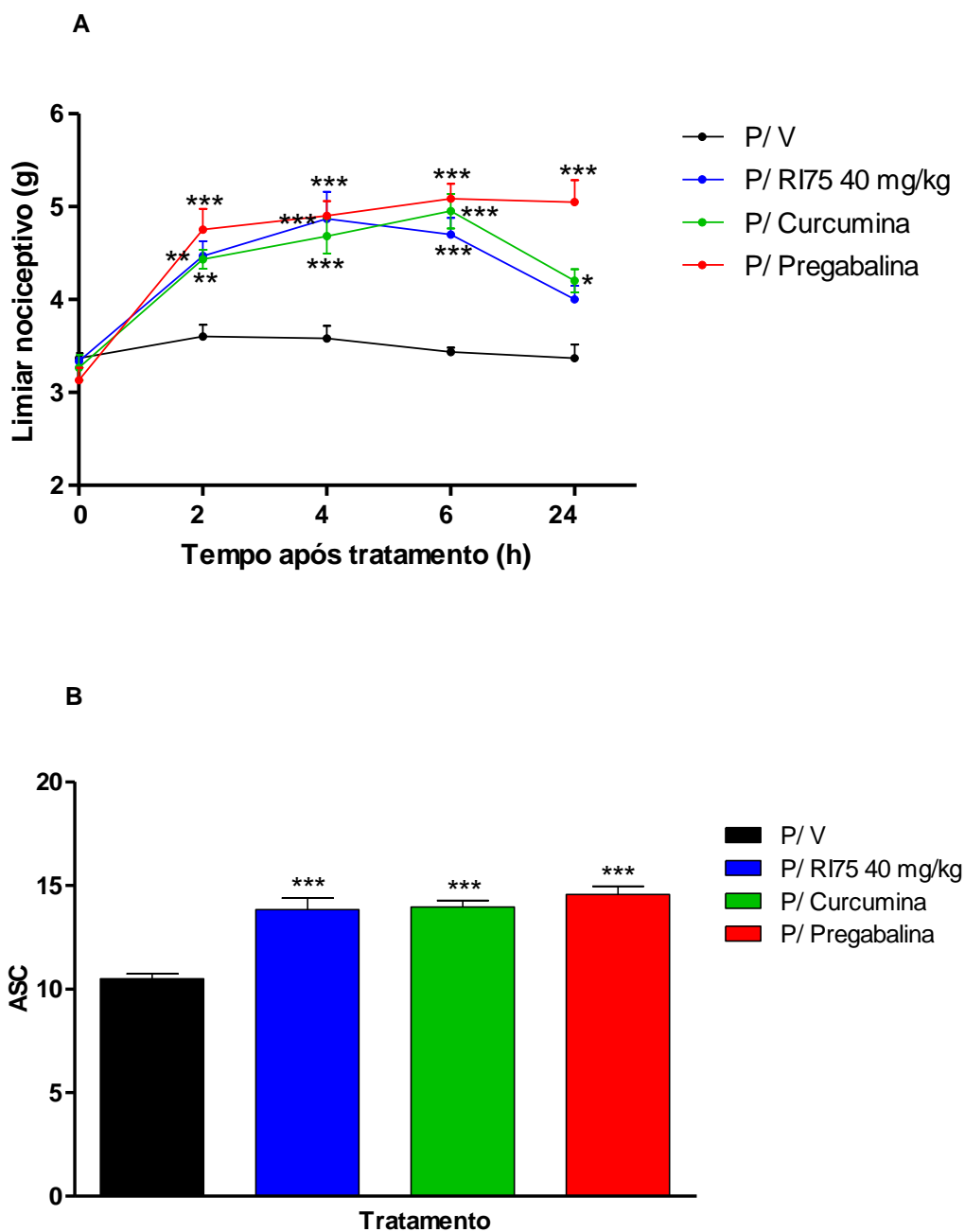


Figura 18 Efeitos induzidos por RI75 (40 mg/kg, i.p.), curcumina (40 mg/kg, i.p.), pregabalina (30 mg/kg, i.p.) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg, i.p.) sobre a alodínia mecânica induzida por paclitaxel (2 mg/kg.dia, i.p.). V = veículo. P= paclitaxel. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle ($p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$.

5.5 Efeito induzido pelo RI75 sobre a atividade motora

A atividade motora dos camundongos foi avaliada na haste girante com o objetivo de validar os resultados obtidos nos modelos experimentais de dor.

RI75 (40 mg/kg, i.p.), curcumina (40 mg/kg, i.p.) ou veículo (CMC 0,5%, i.p.) não alteraram o tempo permanência dos animais na haste girante durante todo o período de avaliação (6 h). Entretanto, o fenobarbital (50 mg/kg, p.o.) reduziu significativamente o tempo de permanência dos animais na haste girante (Figura 19).

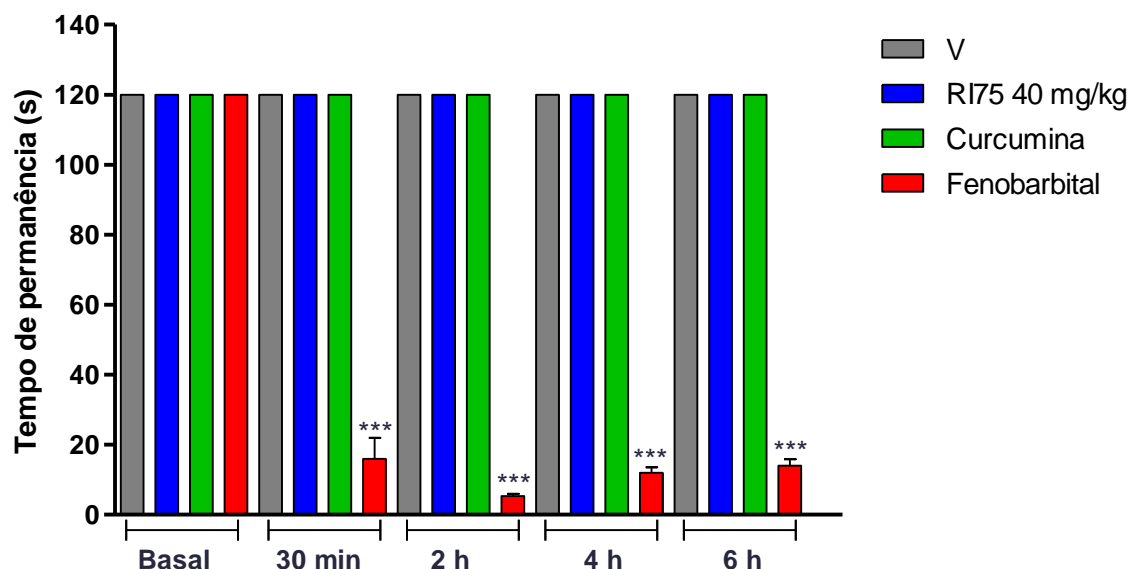


Figura 19 Efeitos induzidos por RI75 (40 mg/kg, i.p., - 30 min), curcumina (40 mg/kg, i.p., - 30 min), fenobarbital (50 mg/kg, p.o., - 30 min) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg, i.p., -30 min) sobre o tempo de permanência dos camundongos na haste girante. V = veículo. *** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,001$). $n=6$.

5.6 Efeito induzido pelo RI75 sobre o edema de pata induzido por carragenina

A atividade do RI75 em modelo de edema de pata induzido por carragenina foi avaliada logo após a avaliação do efeito induzido por essa substância sobre a alodínia mecânica. O RI75, nas doses avaliadas (10, 20 ou 40 mg/kg), reduziu significativamente o edema de pata nos intervalos avaliados nesse protocolo (2, 4 e 6 h após injeção do estímulo inflamatório). A dexametasona, utilizada como controle positivo do experimento, inibiu a formação do edema de pata nesse modelo (Figura 20).

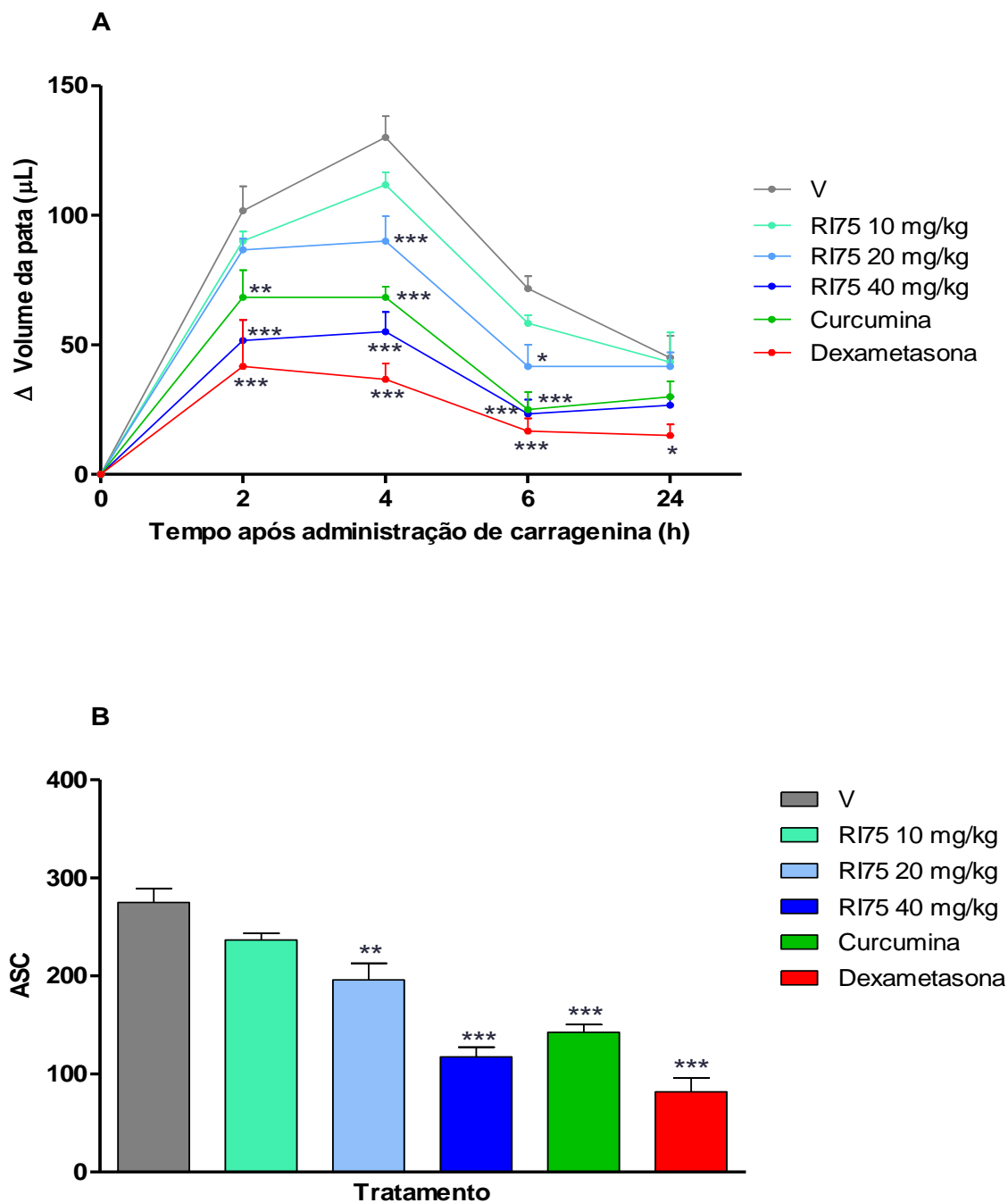


Figura 20 Efeitos induzidos por RI75 (10, 20 e 40 mg/kg, i.p., - 30 min), curcumina (40 mg/kg, i.p., -30 min), dexametasona (2 mg/kg, i.p., - 30 min) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg, i.p., -30 min) sobre a edema de pata induzido por carragenina (600 μg, 30 μL, i.pl.). V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle ($p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$.

5.7 Efeito induzido pelo RI75 sobre a produção de TNF- α e IL-6 e a atividade da MPO induzidas por carragenina

Houve aumento das concentrações de TNF- α e IL-6 na pata dos animais 4 h após a injeção i.pl. de carragenina (600 μ g, 30 μ L). Foi observado que o tratamento prévio com o RI75 (40 mg/kg, i.p.) reduziu as concentrações de TNF- α (Figura 21 A) e IL-6 (Figura 21 B) na pata dos animais na 4^a h após a injeção do estímulo inflamatório. O RI75 também reduziu a atividade da enzima MPO (Figura 22).

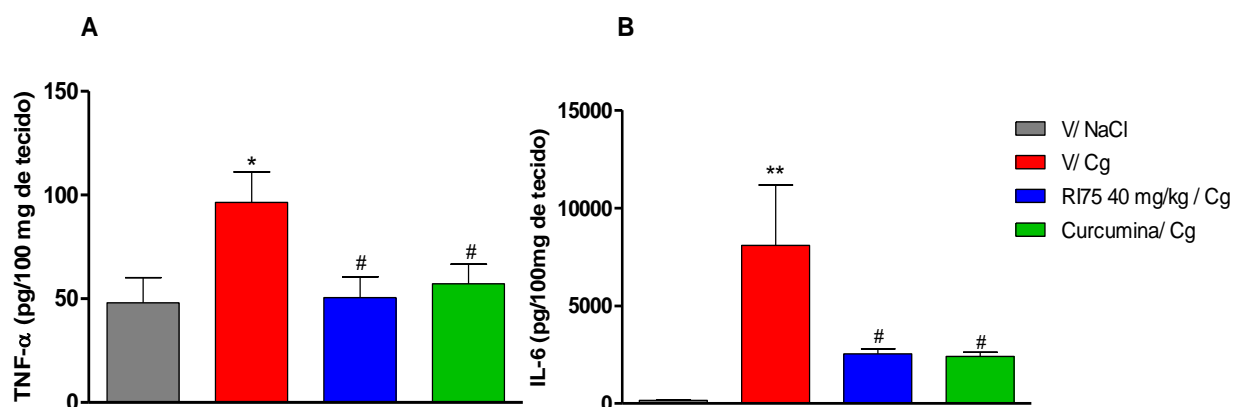


Figura 21 Efeito induzido pelo RI75 (40 mg/kg, i. p., -30 min), curcumina (40 mg/kg, i.p., -30 min) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg, i.p., -30 min) sobre a concentração de (A) TNF- α e (B) IL-6 na pata dos animais 4 h após a injeção de carragenina (600 μ g, 30 μ L, i.pl.). V = veículo. * e ** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle ($p < 0,05$ e $p < 0,001$, respectivamente). # indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo carragenina ($p < 0,05$). $n = 6$.

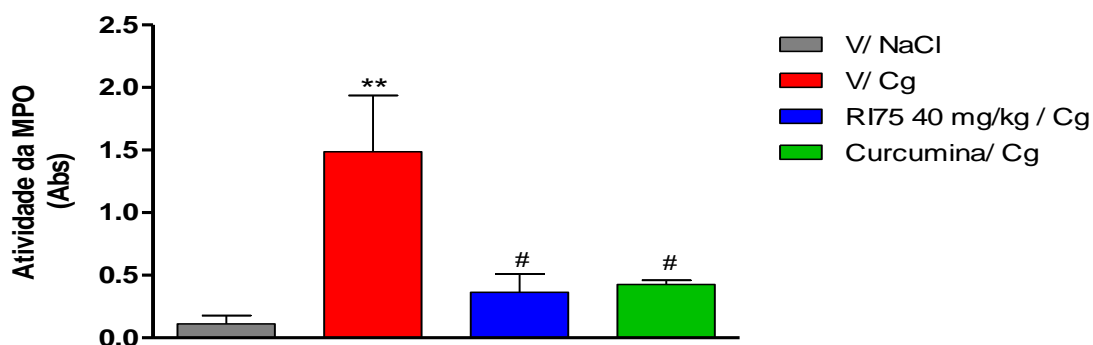


Figura 22 Efeito induzido pelo RI75 (40 mg/kg, i. p., -30 min), curcumina (40 mg/kg, i.p., -30 min) ou veículo (CMC 0,5%, 10 mL/kg, i.p., -30 min) sobre a atividade da MPO na pata dos animais 4 h após a injeção de carragenina (600 μ g, 30 μ L, i.pl.). V = veículo. ** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,01$). # indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo carragenina ($p < 0,05$). $n = 6$.

6. DISCUSSÃO

A eficácia reduzida e a segurança inadequada apresentadas por muitos fármacos utilizados como analgésicos e anti-inflamatórios instigam a busca por novas terapias para pacientes com condições inflamatórias ou dolorosas, representando um grande desafio. Assim, a busca por novas alternativas farmacoterapêuticas torna-se necessária. Dessa maneira, as plantas medicinais constituem uma fonte para a descoberta de novas substâncias biologicamente ativas e uma alternativa terapêutica para o tratamento de pacientes com diversas condições patológicas (CASTILHO & BRAGA, 2011).

A curcumina é um importante componente da cúrcuma, uma planta empregada na medicina tradicional principalmente pelas suas propriedades anti-inflamatória, antialérgica e antimicrobiana. Entretanto, devido à baixa biodisponibilidade, a atividade da curcumina não é muito marcante (SANTIAGO *et al.*, 2015). Tendo em vista essa limitação, abordagens como síntese de análogos estruturais, uso de nanopartículas, lipossomas ou micelas, são realizadas na tentativa de obter moléculas com melhores características biofarmacêuticas e efeitos biológicos de maior magnitude (ANAND *et al.*, 2007; GUPTA *et al.*, 2012). Numerosos estudos demonstraram que análogos da curcumina apresentam atividade em diversos modelos de dor e inflamação (LIANG *et al.*, 2008; ZHAO *et al.*, 2010; KAMARUDIN *et al.*, 2018).

No presente estudo, foram avaliadas as atividades do análogo da curcumina, RI75, em diferentes modelos experimentais de dor e inflamação. Os resultados demonstraram que o RI75 induz efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório nos modelos experimentais avaliados. Os mecanismos parecem envolver a participação de receptores opioidérgicos e serotoninérgicos e redução da produção de TNF- α e IL-6 e do recrutamento de neutrófilos.

6.1 Atividade do RI75 em modelos experimentais de dor

No presente estudo, foi avaliada a atividade antinociceptiva do RI75 em modelos experimentais de dor nociceptiva, inflamatória e neuropática nos quais a sensibilização foi induzida por calor, carragenina e quimioterápico, respectivamente.

Inicialmente, investigamos a atividade do RI75 em um modelo experimental de dor inflamatória induzida por carragenina. A carragenina é uma mistura de polissacarídeos extraída de algas marinhas, composta principalmente por D-galactose sulfatada, que induz uma resposta inflamatória aguda. Essa reação é resultante da produção local de uma série de mediadores inflamatórios como citocinas (TNF- α , IL1 β e IL6), NO e eicosanoides, entre outros (VINEGAR *et al.*, 1987; CHEN *et al.*, 1994; HANDY & MOORE, 1998; CUNHA *et al.*, 2000; LORAM *et al.*, 2007). Esses mediadores, além de desencadarem um processo inflamatório agudo, aumentando a permeabilidade vascular e o extravasamento de líquido e proteínas, promovem a sensibilização dos nociceptores (GREGORY *et al.*, 2013; NECAS & BARTOSIKOVA, 2013).

Os resultados demonstraram que a administração do RI75 reduziu a alodínia mecânica induzida pela carragenina. O efeito antinociceptivo da curcumina em modelos dor inflamatória foi revisado por Sun e colaboradores (2018), que compilaram resultados de vários estudos. A atividade da curcumina foi demonstrada em modelos de dor orofacial induzida por formaldeído, osteoartrite e hiperalgesia induzida por ânion superóxido, carragenina, capsaisina ou CFA. Outro estudo, no qual foi avaliado o efeito de um análogo da curcumina, também demonstrou atividade semelhante. Ming-Tatt e colaboradores (2012) observaram que a administração i.p. do análogo BHMC (2,6-bis- (4-hidroxi-3-metoxibenzilideno) ciclo-hexanona) atenuou a segunda fase da resposta nociceptiva induzida por formaldeído em camundongos.

Também foi investigada a atividade do RI75 em um modelo experimental de dor provocada por um estímulo térmico. O teste da placa quente é um método clássico utilizado para avaliar a nocicepção em roedores (Le BARS *et al.*, 2001). Os receptores vaniloides de potencial transitório tipo 1 (TRPV1) são termoreceptores expressos em neurônios sensoriais primários, que têm os corpos celulares em gânglios trigeminiais e das raízes dorsais e são ativados pelo calor (>42 °C) (CATERINA, 2007).

A administração do RI75 não alterou de forma significativa a latência do comportamento nociceptivo no modelo da placa quente. A resposta obtida nesse modelo está em consonância com aquelas obtidas com a curcumina. A administração da curcumina (10 e 20 mg/kg, i.p.) não alterou o limiar da

nociceção térmica induzida pelo calor radiante. Ainda, com estudos eletrofisiológicos aplicados em oócitos, que expressam TRPV1, foi demonstrado que a curcumina não impediu a corrente catiônica induzida pela capsaicina (MARTELLI *et al.*, 2007; KAVOUSI *et al.*, 2016). Estudos adicionais são necessários para obtenção de conhecimento mais aprofundando do perfil de atividade desse análogo no processamento nociceptivo.

Em seguida, foi investigada a atividade do RI75 em modelo de dor neuropática induzida por quimioterápico. O paclitaxel é um agente antineoplásico utilizado no tratamento de pacientes com cânceres sólidos de mama, ovário, pulmão ou pescoço. Entretanto, o paclitaxel pode levar ao desenvolvimento de neuropatia periférica, decorrente da degeneração das fibras nervosas periféricas (SCRIPTURE *et al.*, 2006; TOMA *et al.*, 2017). Esse agente quimioterápico aumenta a atividade de canais iônicos e a produção de EROS, que podem interromper a cadeia de transporte de elétrons mitocondriais e alterar a produção de ATP nos neurônios sensoriais. Ademais, o paclitaxel promove ativação astrocítica espinal, levando a liberação de TNF- α , IL-6 e IL- β e induzindo alodínia mecânica (SISIGNANO *et al.*, 2014).

O RI75 (40 mg/kg i.p.) atenuou a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel. Greeshma e colaboradores (2015) observaram que a tetra-hidrocurcumina (40 e 80 mg/kg, *p.o.*), um análogo natural da curcumina, reduziu a alodínia térmica e hiperalgesia mecânica em modelo de dor neuropática induzida por vincristina em ratos. Outros análogos da curcumina, como o J147 (N - (2,4-dimetilfenil) -2,2,2-trifluoro- N - [(E) - (3-metoxifenil) metilidenamino] acetamida) e o B14 ((1E, 4E) -1,5-bis (4-hidroxi-3-metoxifenil) penta-1,4-dien-3-ona), também reduziram a alodínia mecânica induzida por estreptozotocina e câncer ósseo (LV *et al.*, 2018; XU *et al.*, 2019). É importante mencionar que a curcumina também apresenta atividade antinociceptiva em modelos de dor neuropática induzida por vincristina (BABU *et al.*, 2015), lesão por constrição crônica (ZHU *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2016), álcool (KANDHARE *et al.*, 2012) e estreptozotocina (SHARMA *et al.*, 2006). A atividade do RI75 em modelo de dor neuropática representa um resultado de grande interesse quando se vislumbra o desenvolvimento de um novo fármaco, uma vez que há poucas alternativas farmacoterapêuticas para o alívio dessa categoria de dor.

Com o objetivo de investigar se a atividade antinociceptiva poderia resultar de incoordenação motora e/ou relaxamento muscular, avaliou-se o efeito induzido pelo RI75 sobre o tempo de permanência dos animais na haste girante. Uma vez que o RI75 não alterou o tempo de permanência dos animais na haste girante, é pouco provável que a atenuação do comportamento nociceptivo induzida por essa substância nos modelos indicados seja resultado de comprometimento da atividade motora ou de relaxamento muscular.

6.2 Atividade do RI75 em modelo experimental de inflamação aguda

A administração de carragenina aumenta a permeabilidade vascular e extravasamento de líquidos e leucócitos, por mecanismos previamente descritos, levando à formação do edema inflamatório. O edema de pata resultante dessa indução é um modelo experimental largamente utilizado para investigar a atividade anti-inflamatória de fármacos e candidatos a fármacos (MORRIS, 2003).

O pré-tratamento dos animais com o RI75 reduziu o edema de pata induzido pela carragenina. O efeito induzido pelo RI75 é semelhante àqueles demonstrados por outros grupos de pesquisadores que investigaram análogos da curcumina. Wang e colaboradores (2012) demonstraram a redução do edema induzido por carragenina em camundongos pré-tratados com análogo da curcumina (A13; 10 e 30 mg/kg, i.p.; Figura 2A), sendo que a atividade observada foi comparável à da dexametasona. Recentemente, foi demonstrado que o análogo da curcumina, o DHHPD ((3,4-Di-hidroxifenil) -3-hidroxi-1- (2-hidroxifenil) penta-2,4-dien-1-ona), na dose de 3 mg/kg (i.p.), inibiu o edema induzido por carragenina, histamina, serotonina ou bradicinina em camundongos (HISAMUDDIN *et al.*, 2019).

A resposta inflamatória induzida por carragenina é caracterizada pela liberação de histamina, serotonina e bradicinina, assim como pela presença de neutrófilos, produção de PG e indução de COX-2. A lesão tecidual leva à produção de bradicinina, que estimula a liberação sequencial de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e quimiocinas. Essas citocinas e quimiocinas têm papel importante na indução de edema, alodínia, hiperalgesia e migração de neutrófilos (CUNHA *et al.*, 2005; LORAM *et al.*, 2007; ANNAMALAI & THANGAM, 2017).

Tendo em vista que TNF- α e IL-6 são importantes para o desenvolvimento da resposta inflamatória aguda induzida por carragenina (CUNHA *et al.*, 2005) e que o RI75 foi capaz de atenuar o edema e a alodínia mecânica induzidos por esse estímulo, foi investigado o efeito induzido pelo análogo da curcumina sobre a produção desses mediadores inflamatórios, após a administração i.pl. de carragenina. O RI75 reduziu as concentrações de TNF- α e IL-6 na pata dos animais. Muitos estudos demonstraram que a curcumina e análogos reduzem a produção dessas citocinas em diferentes modelos. Análogos sintéticos foram eficientes na inibição da expressão ou produção de TNF- α e IL-6 em modelos de lesão pulmonar, sepse e inflamação aguda induzidas pela administração intravenosa de LPS (WANG *et al.*, 2012; ZHAO *et al.*, 2015; XIAO *et al.*, 2019); inflamação cardíaca associada à obesidade (QIAN *et al.*, 2015) e edema de orelha induzido por TPA (RAKARIYATHAM *et al.*, 2019). De modo semelhante, a curcumina atenuou a lesão de células endoteliais da aorta torácica de ratos induzida por glicose, um efeito associado com a diminuição da expressão de citocinas como TNF- α e IL-6 (ZHANG & LI, 2018). As concentrações séricas dessas citocinas também foram reduzidas no modelo de mastite induzida por *Staphylococcus aureus* (XU *et al.*, 2020). Em um estudo in vitro, foi comprovado que a curcumina inibe a expressão de TNF- α e IL-6 e outros mediadores inflamatórios em células epiteliais gengivais estimuladas por LPS (TORAYA *et al.*, 2020).

A injeção de carragenina induz a migração de neutrófilos para o sítio inflamatório. Essas células produzem mediadores inflamatórios proteicos e lipídicos, bem como radicais livres, que contribuem para o aumento da permeabilidade vascular e danos tissulares (SALVEMINI *et al.*, 1996). A MPO é uma enzima liberada por neutrófilos, possui propriedades inflamatórias e antimicrobianas e serve como marcador inflamatório (QUEIROZ-JUNIOR *et al.*, 2009; KLINKE *et al.*, 2011). O pré-tratamento dos animais com RI75 ou curcumina reduziu a atividade da MPO induzida por carragenina. A curcumina também diminuiu a atividade da MPO induzida por outros estímulos como ânion superóxido (FATTORI *et al.*, 2015), LPS (KUMARI *et al.*, 2017) e sulfato de dextrano sódico (GONG *et al.*, 2018). O efeito induzido pelo RI75 sobre a atividade da MPO indica que a inibição da ativação e do recrutamento de

neutrófilos pode contribuir para a atividade anti-inflamatória desse análogo de curcumina.

As atividades antialodínica e antiedematogênica do RI75 estão relacionadas com a diminuição do recrutamento neutrofílico e da produção de TNF- α e IL-6. Provavelmente, a redução da produção de citocinas está associada com a inibição da ativação de NF- κ B (GUPTA *et al.*, 2012).

6.3 Papel das vias opioidérgicas e serotoninérgicas e dos canais K_{ATP} na atividade antinociceptiva do RI75

Visando à investigação do papel dos receptores opioidérgicos e serotoninérgicos e também dos canais K_{ATP} na atividade do RI75 em modelo de dor inflamatória induzida por carragenina, foram utilizadas as seguintes ferramentas farmacológicas: naltrexona, ciproheptadina e glibenclamida.

O sistema opioidérgico endógeno consiste de peptídeos e seus receptores, que estão amplamente distribuídos no SNC e em tecidos periféricos. A interação desses peptídeos com os receptores em neurônios pré-sinápticos reduz a liberação de neurotransmissores, como glutamato, inibindo a propagação do potencial de ação, ou seja, inibe a transmissão do sinal nociceptivo, diminuindo a sensação dolorosa (BENARROCH, 2012). A naltrexona, um antagonista não seletivo de receptores opioides (TOLJAN & VROOMAN, 2018), foi utilizada para investigar se a via opioidérgica poderia mediar a atividade antinociceptiva do RI75. A administração prévia de naltrexona inibiu a atividade antinociceptiva do RI75, indicando que essa atividade depende em parte da ativação de vias opioidérgicas. Entretanto, não está claro se RI75 interage diretamente com receptores opioidérgicos ou estimula a liberação de peptídeos endógenos, ações que poderiam contribuir para sua atividade antinociceptiva. Assim, estudos adicionais deverão ser realizados com o objetivo de investigar de maneira mais detalhada a participação do sistema opioidérgico nessa resposta.

A serotonina, uma monoamina amplamente distribuída na periferia e no SNC, possui ações complexas no processamento e modulação da dor. A nível periférico possui atividade hiperalgésica, enquanto a nível central, suas ações resultam em inibição do processamento nociceptivo (SOMMER *et al.*, 2010;

VIGUIER *et al.*, 2013). A ciproheptadina, um antagonista de receptor serotoninérgico, quando administrada previamente ao RI75, atenuou a atividade do análogo no modelo de dor inflamatória. Embora a ciproheptadina não seja um antagonista serotoninérgico seletivo (GRAUDINS *et al.*, 1998), esses resultados levam à sugestão de que a ativação de vias serotoninérgicas possa contribuir para a atividade antinociceptiva do RI75.

A ativação de canais K_{ATP} pode causar uma hiperpolarização dos terminais periféricos de neurônios aferentes, diminuindo a propagação do potencial de ação e inibindo o processamento nociceptivo (TSANTOULAS & MCMAHON, 2014). A ativação desses canais não parece ser relevante para a atividade do RI75, uma vez que a administração prévia de glibenclamida, um bloqueador de canais K_{ATP} , não atenuou a atividade antialodínica do RI75.

Tendo em vista os resultados do presente estudo, sugere-se que a atividade do RI75 envolva a ativação das vias opioidérgica e serotoninérgica, assim como observado para a curcumina. Em modelo de nocicepção visceral, a administração de naloxona ou ciproheptadina, previamente à injeção de ácido acético, reduziu significativamente a contorção abdominal, indicando que o efeito antinociceptivo da curcumina seja mediado pela ativação das vias opioidérgicas e serotoninérgicas (TAJIK *et al.*, 2008; MOTAGHINEJAD *et al.*, 2015). A participação dessas vias também foi investigada em modelo de dor neuropática induzida por lesão constritiva crônica. Nesse modelo, o efeito da curcumina sobre a hiperalgesia térmica e alodínia mecânica foi reduzido pela administração de antagonistas de receptores opioidérgicos e monoaminérgicos (ZHAO *et al.*, 2012).

6.4 Limitações

Os resultados do presente estudo são promissores quando se tem em perspectiva a investigação do RI75 como um candidato a fármaco analgésico e anti-inflamatório. Porém, sabe-se que a pesquisa translacional é limitada, visto que há um elevado número de moléculas que apresentam atividade antinociceptiva e anti-inflamatória em ensaios pré-clínicos e um número extremamente reduzido de fármacos analgésicos aprovados nas últimas décadas. Os resultados que demonstram a atividade do RI75 em diferentes

modelos de dor e inflamação devem ser complementados pela investigação das atividades em outros modelos experimentais, bem como da avaliação dos perfis farmacocinético e toxicológico, a fim de obter melhor caracterização do análogo.

6.5 Perspectivas

O RI75 apresenta atividades anti-inflamatória e antinociceptiva que podem estar relacionadas à ativação das vias opioidérgica e serotoninérgica e redução da produção de TNF- α e IL-6 e da atividade da MPO. Esses resultados são importantes considerando a perspectiva de desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que os principais mecanismos envolvidos na ação de fármacos analgésicos e anti-inflamatórios conhecidos incluem inibição da produção, liberação ou ação de mediadores inflamatórios. Estudos adicionais devem ser conduzidos para explorar a atividade do RI75 em modelos experimentais crônicos, como modelos de dor neuropática induzidas por lesões mecânicas e modelos de artrite reumatoide, assim como os possíveis alvos moleculares do RI75.

7. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que o RI75 apresenta atividades em modelos de dores inflamatória e neuropática e em modelo de edema inflamatório, provavelmente relacionadas com a ativação de mecanismos opioidérgicos e serotoninérgicos e inibição da produção e/ou ação de mediadores inflamatórios e do recrutamento de neutrófilos.

Referências bibliográficas

AGGARWAL, B.B.; HARIKUMAR, K.B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.41, p.40-59, 2009.

AN, T.N.M.; KUMAR, M.A.; CHANG, S.H.; KIM, M.Y.; KIM, J.A.; LEE, K. D. Synthesis, anticancer and antioxidant activity of novel 2, 4-disubstituted thiazoles. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 35, p. 1619-1624, 2014.

ANAND, P.; KUNNUMAKKARA, A.B.; NEWMAN, R.A.; AGGARWAL, B.B. Bioavailability of curcumin: problems and promises. **Molecular Pharmaceutics**, v. 4, n. 6, p. 807-818, 2007.

ANNAMALAI, P.; THANGAM, E.B. Local and systemic profiles of inflammatory cytokines in carrageenan-induced paw inflammation in rats. **Immunological Investigations**, v. 46, n. 3, p. 274-283, 2017.

ATRETKHANY, K.N.; DRUTSKAYA, M.S.; NEDOSPASOV, S.A.; GRIVENNIKOV, S. I.; KUPRASH, D.V. Chemokines, cytokines and exosomes help tumors to shape inflammatory microenvironment. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 168, p. 98-112, 2016.

BABU, A.; PRASANTH, K.G.; BALAJI, B. Effect of curcumin in mice model of vincristine-induced neuropathy. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 6, p. 838-848, 2015.

BARNES, P.J.; ADCOCK, I.; SPEDDING, M.; VANHOUTTE, P.M. Anti-inflammatory actions of steroids: molecular mechanisms. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 14, n. 12, p. 436-441, 1993.

BENARROCH, E. E. Endogenous opioid systems: current concepts and clinical correlations. **Neurology**, v. 79, n. 8, p. 807-814, 2012.

BLATTEIS, C.M. Endotoxic fever: New concepts of its regulation suggest new approaches to its management. **Pharmacology & Therapeutics**, v.111, p.194-223, 2006.

BISWAS, S.; CHEN, S.; LIANG, G.; FENG, B.; CAI, L.; KHAN, Z. A.; CHAKRABARTI, S. Curcumin Analogs Reduce Stress and Inflammation Indices in Experimental Models of Diabetes. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, p. 887, 2019.

BOYANAPALLI, S.S.; HUANG, Y.; SU, Z.; CHENG, D.; ZHANG, C.; GUO, Y.; KONG, A.N. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Curcumin in

regulating anti-inflammatory and epigenetic gene expression. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, v. 39, n. 6, p. 289-297, 2018.

BURMA, N. E.; LEDUC-PESSAH, H.; FAN, C. Y.; TRANG, T. Animal models of chronic pain: Advances and challenges for clinical translation. **Journal of Neuroscience Research**, v. 95, p.1242-1256, 2016.

BURNETT, B.; LEVY, R. 5-Lipoxygenase Metabolic Contributions to NSAID Induced Organ Toxicity. **Review. Advances in Therapy**, v.29, n.2, p.79-98, 2012.

CAROZZI, V. A.; CANTA, A.; CHIORAZZI, A. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: what do we know about mechanisms? **Neuroscience Letters**, v. 596, p. 90-107, 2015.

CASTILHO, R.O.; BRAGA, F.C. **Farmacognosia: coletânea científica**. In: SOUZA, G. H. B.; MELLO, J. C. P.; LOPES, N. P. Ouro Preto: Editora UFOP, p.295-318, 2011.

CATERINA, M.J. Transient receptor potential ion channels as participants in thermosensation and thermoregulation. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, n. 1, p. R64-R76, 2007.

CHEN, Y.L.; LE VRAUX, V.; GIROUD, J.P.; CHAUVELOT-MOACHON, L. Anti-tumor necrosis factor properties of non-peptide drugs in acute-phase responses. **European Journal Pharmacology**, v.271, p.319-27, 1994.

CHEN, D.; NIE, M.; FAN, M.W.; BIAN, Z. Anti-inflammatory activity of curcumin in macrophages stimulated by lipopolysaccharides from *Porphyromonas gingivalis*. **Pharmacology**, v. 82, n. 4, p. 264-269, 2008.

CHERUBINO, P.; SARZI-PUTTINI, P.; ZUCCARO, S.M.; LABIANCA, R. The Management of Chronic Pain in Important Patient Subgroups. Review Article. **Clinical Drug Investigation**, v.32 n.1, p. 35-44, 2012.

COLLINS, T. Acute and chronic inflammation. In: COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. (Eds.). **Robbins Pathologic Basis of Disease**. 6th ed. Philadelphia, Saunders, cap. 3, 1999, p. 50-88.

COLLOCA, L.; LUDMAN, T.; BOUHASSIRA, D.; BARON, R.; DICKENSON, A. H., YARNITSKY, D.; ECCLESTON, C. Neuropathic pain. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 1-19, 2017.

CUNHA, J.M.; CUNHA, F.Q.; POOLE, S.; FERREIRA, S.H. Cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia limited by interleukin-1 receptor antagonist. **British Journal of Pharmacology**, v.130, n. 6, p.1418-24, 2000.

CUNHA, T.; VERRI, W.A.; SILVA, J.S.D.; POOLE, S.; CUNHA, F.D.Q.; FERREIRA, S.H. A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 5, p. 1755-1760, 2005.

DAI, Y. TRPs and pain. In: Seminars in immunopathology. **Springer Berlin Heidelberg**, p. 277-291, 2016.

DAI, Q.; DI Z.; LIPING X.; SONG, X. Curcumin alleviates rheumatoid arthritis-induced inflammation and synovial hyperplasia by targeting mTOR pathway in rats. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 12, p. 4095, 2018.

DWORKIN, R.H.; O'CONNOR, A.B.; AUDETTE, J.; BARON, R.; GOURLAY, G.K.; HAANPÄÄ, M.L.; MACKEY, S.C. Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: an overview and literature update. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 85, n. 3, p. S3-14, 2010.

ELBURKI, M.S.; ROSSA, C.; GUIMARÃES-STABILI, M.R.; LEE, H.M.; CURYLOFO-ZOTTI, F.A.; JOHNSON, F.; GOLUB, L.M. A chemically modified curcumin (CMC 2.24) inhibits nuclear factor κ B activation and inflammatory bone loss in murine models of LPS-induced experimental periodontitis and diabetes-associated natural periodontitis. **Inflammation**, v. 40, n. 4, p. 1436-1449, 2017.

FARDET, L.; FLAHAULT, A.; KETTANEH, A.; TIEV, K.P.; GÉNEREAU, T.; TOLÉ; DANO, C.; LEBBÉ, C.; CABANE, J. Corticosteroid-induced clinical adverse events: frequency, risk factors and patient's opinion. **British Journal of Dermatology**, v. 157, p. 142-148, 2007.

FATTORI, V.; PINHO-RIBEIRO, F.A.; BORGHI, S.M.; ALVES-FILHO, J.C.; CUNHA, T.M.; CUNHA, F.Q.; VERRI, W.A. Curcumin inhibits superoxide anion-induced pain-like behavior and leukocyte recruitment by increasing Nrf2 expression and reducing NF- κ B activation. **Inflammation Research**, v. 64, n. 12, p. 993-1003, 2015.

FINNERUP, N.B.; SINDRUP, S.H.; JENSEN T.S. The evidence for pharmacological treatment of neuropathic pain. **Pain**, v.150, p.573–581, 2010.

FLEISCHMANN, R.; IQBAL, I.; SLOBODIN, G. Meloxicam. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 3, n. 10, p. 1501-1512, 2002.

FORNASARI, D. Pain mechanisms in patients with chronic pain. **Clinical Drug Investigation**, v.32, n. 1, p.45-52, 2012.

FUCHS, F.D.; WANMACHER, L.; FERREIRA, M.B.C. Farmacologia Clínica. **Fundamentos da Terapêutica Racional** 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 241, 2010.

GIESECK, R.L.; WILSON, M.S.; WYNN, T.A. Type 2 immunity in tissue repair and fibrosis. **Nature Reviews Immunology**, p.1-15, 2017.

GILROY, D.W. Eicosanoids and the endogenous control of acute inflammatory resolution. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.42, p.524– 528, 2010.

GONG, Z.; ZHAO, S.; ZHOU, J.; YAN, J.; WANG, L.; DU, X.; WU, J. Curcumin alleviates DSS-induced colitis via inhibiting NLRP3 inflammasome activation and IL-1 β production. **Molecular Immunology**, v. 104, p. 11-19, 2018.

GORDON, C. J. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiology & Behaviour**, v. 47, p. 963-991, 1990.

GRAUDINS, A.; STEARMAN, A.; CHAN, B. Treatment of the serotonin syndrome with cyproheptadine. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 16, p. 615-619, 1998.

GREESHMA, N.; PRASANTH, K.G.; BALAJI, B. Tetrahydrocurcumin exerts protective effect on vincristine induced neuropathy: behavioral, biochemical, neurophysiological and histological evidence. **Chemico-Biological Interactions**, v. 238, p. 118-128, 2015.

GREGORY, N.; HARRIS, A.L.; ROBINSON, C.R.; DOUGHERTY, P.M.; FUCHS, P.N. SLUKA, K.A. An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. **The Journal of Pain**. v. 14, n. 11, p. 1255-1269, 2013.

GROSSER, T.; SMYTH, E.; FITZGERALD, G.A. Analgésicos, antipiréticos e antiinflamatórios; farmacoterapia da gota. In: BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLMANN, B.C. (Eds.). Goodman & Gilman - **As bases farmacológicas da terapêutica**. 12a ed. Porto Alegre: McGraw-Hill. Cap. 34, p. 959-1003, 2012.

GUIMARÃES, M.R.; LEITE, F.R.M.; SPOLIDORIO, L.C.; KIRKWOOD, K.L.; ROSSA J.C. Curcumin abrogates LPS-induced pro-inflammatory cytokines in RAW 264.7 macrophages. Evidence for novel mechanisms involving SOCS-1, -3 and p38 MAPK. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 10, p. 1309-1317, 2013.

GUPTA, S.C.; PATCHVA, S.; KOH, W.; AGGARWAL, B.B. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 39, n. 3, p. 283-299, 2012.

HANDY, R.L.C.; MOORE, P.K. A comparison of the effects of L-NAME, 7-NI and L-NIL on carrageenan-induced hindpaw oedema and NOS activity. **British Journal of Pharmacology**, v. 123, n. 6, p. 1119-1126, 1998.

HARRIS, S.G.; PADILLA, J.; KOUMAS, L.; RAY, D.; PHIPPS, R.P. Prostaglandins as modulators of immunity. **Trends in Immunology**, v. 23, n. 3, p. 144-150, 2002.

HISAMUDDIN, N.; SHAIK M.W.M.; SULAIMAN, M.R.; ABAS, F.; LEONG, S.W.; KAMARUDIN, N.; TALIB, M. Anti-Edematogenic and Anti-Granuloma Activity of a Synthetic Curcuminoid Analog, 5-(3, 4-Dihydroxyphenyl)-3-hydroxy-1-(2-hydroxyphenyl) penta-2, 4-dien-1-one, in Mouse Models of Inflammation. **Molecules**, v. 24, n. 14, p. 2614, 2019.

HOLLA, B.S.; MALINI, K.V.; RAO, B.S.; SAROJINI, B.K.; KUMARI, N.S. Synthesis of some new 2, 4-disubstituted thiazoles as possible antibacterial and anti-inflammatory agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 38, n. 3, p. 313-318, 2003.

HUGHES, C.E.; NIBBS, R.J.B. A Guide to Chemokines and Their Receptors. **The FEBS Journal**, v.285, n. 16, p. 2944-2971, 2018.

IASP: IASP Taxonomy – Pain Terms. Disponível em: <<http://www.iasp-pain.org/Content/NavigationMenu/GeneralResourceLinks/PainDefinitions/>>. Acesso em julho 2020.

JOSEPH, A.I.; EDWARDS, R.L.; LUIS, P.B.; PRESLEY, S.H.; PORTER, N.A.; SCHNEIDER, C. Stability and anti-inflammatory activity of the reduction-resistant curcumin analog, 2, 6-dimethyl-curcumin. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 16, n. 17, p. 3273-3281, 2018.

JURENKA, J.S., Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. **Alternative Medicine Review**. v.14, n. 2, p.141-53, 2009.

KALKHAMBKAR, R.G.; KULKARNI, G.M.; SHIVKUMAR, H.; RAO, R.N. Synthesis of novel triheterocyclic thiazoles as anti-inflammatory and analgesic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, n. 10, p. 1272-1276, 2007.

KAMARUDIN, N.; HISAMUDDIN, N.; ONG, H.M.; AHMAD, A.A.F.; LEONG, S.W.; ABAS, F.; SHAIK, M.W.M. Analgesic effect of 5-(3, 4-Dihydroxyphenyl)-3-hydroxy-1-(2-hydroxyphenyl) penta-2, 4-dien-1-one in experimental animal models of nociception. **Molecules**, v. 23, n. 9, p. 2099, 2018.

KANAZAWA, T.; ENDO, T.; ARIMA, N.; IBARAKI, H.; TAKASHIMA, Y.; SETA, Y. Systemic delivery of small interfering RNA targeting nuclear factor κ B in mice with collagen-induced arthritis using arginine-histidine-cysteine based oligopeptidemodified polymer nanomicelles. **The International Journal of Pharmaceutics**, v. 515, p. 315-323, 2016.

KANDHARE, A.D.; RAYGUDE, K.S.; GHOSH, P.; GHULE, A.E.; BODHANKAR, S.L. Therapeutic role of curcumin in prevention of biochemical and behavioral aberration induced by alcoholic neuropathy in laboratory animals. **Neuroscience Letters**, v. 511, n. 1, p. 18-22, 2012.

KARIMIAN, M.S.; PIRRO, M.; MAJEED, M.; SAHEBKAR, A. Curcumin as a natural regulator of monocyte chemoattractant protein-1. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v.33, p.55-63, 2017.

KASHYAP, S.J.; GARG, V.K.; SHARMA, P.K.; KUMAR, N.; DUDHE, R.; GUPTA, J.K. Thiazoles: having diverse biological activities. **Medicinal Chemistry Research**, v. 21, n. 8, p. 2123-2132, 2012.

KAVOUSHI, M., KAZEMI, S., HASHEMI, M., & MOHGADAMNIA, AA. Investigation on the Analgesic and Anti-inflammatory Effects of Curcumin in Mice. **Journal of Babol University of Medical Sciences**, v. 18, n. 11, p. 50-56, 2016.

KHAN, M.A.; EL-KHATIB, R.; RAINSFORD, K.D.; WHITEHOUSE, M.W. Synthesis and anti-inflammatory properties of some aromatic and heterocyclic aromatic curcuminoids. **Bioorganic Chemistry**, v. 40, p. 30-38, 2012.

KLINKE, A.; NUSSBAUM, C.; KUBALA, L.; FRIEDRICH, K.; RUDOLPH, T.K.; RUDOLPH, V.; SZOCS, K. Myeloperoxidase attracts neutrophils by physical forces. **Blood**, v. 117, n. 4, p. 1350-1358, 2011.

KOLACZKOWSKA, E.; KUBES, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v.13, p.159-175, 2013.

KOTHA, R.R.; LUTHRIA, D.L.L. Curcumin: biological, pharmaceutical, nutraceutical, and analytical aspects. **Molecules**, v. 24, n. 16, p. 2930, 2019.

KUMAR, A.; RAJPUT, C.S.; BHATI, S.K. Synthesis of 3-[4'-(p-chlorophenyl)-thiazol-2'-yl]-2-[(substituted azetidinone/thiazolidinone)-aminomethyl]-6-bromoquinazolin-4-ones as anti-inflammatory agent. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 8, p. 3089-3096, 2007.

KUMARI, A.; DASH, D.; SINGH, R. Curcumin inhibits lipopolysaccharide (LPS)-induced endotoxemia and airway inflammation through modulation of sequential release of inflammatory mediators (TNF- α and TGF- β 1) in murine model. **Inflammopharmacology**, v. 25, n. 3, p. 329-341, 2017.

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S.W. Animal models of nociception. **Pharmacological Reviews**, v. 53, n. 4, p. 597-652, 2001.

LEE, J.Y.; SHIN, T.J.; CHOI, J.M.; SEO, K.S.; KIM, H.J.; YOON, T.G.; JUNG, S.J. Antinociceptive curcuminoid, KMS4034, effects on inflammatory and neuropathic pain likely via modulating TRPV1 in mice. **British Journal of Anaesthesia**, v. 111, n. 4, p. 667-672, 2013.

LIANG, G.; LI, X.; CHEN, L.; YANG, S.; WU, X.; STUDER, E.; ZHOU, H. Synthesis and anti-inflammatory activities of mono-carbonyl analogues of curcumin. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, n. 4, p. 1525-1529, 2008.

LIN, C.C.; LIU, Y.; HO, C.T.; HUANG, M.T. Inhibitory effects of 1, 3-bis-(2-substituted-phenyl)-propane-1, 3-dione, β -diketone structural analogues of curcumin, on chemical-induced tumor promotion and inflammation in mouse skin. **Food & Function**, v. 2, n. 1, p. 78-83, 2011.

LINO, C.I.; DE SOUZA, I.G.; BORELLI, B.M.; MATOS, T.T.S.; TEIXEIRA, I.N.S.; RAMOS, J.P.; DE OLIVEIRA, R.B. Synthesis, molecular modeling studies and evaluation of antifungal activity of a novel series of thiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 151, p. 248-260, 2018.

LIU, S.; LI, Q.; ZHANG, M.T.; MAO-YING, Q.L.; HU, L.Y.; WU, G.C.; WANG, Y. Q. Curcumin ameliorates neuropathic pain by down-regulating spinal IL-1 β via suppressing astroglial NALP1 inflammasome and JAK2-STAT3 signalling. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-14, 2016.

LORAM, L.C.; FULLER, A.; FICK, L.G.; CARTMELL, T.; POOLE, S.; MITCHELL, D. Cytokine profiles during carrageenan-induced inflammatory hyperalgesia in rat muscle and hind paw. **The Journal of Pain**, v. 8, n. 2, p. 127-136, 2007.

LV, J.; CAO, L.; ZHANG, R.; BAI, F.; WEI, P. A curcumin derivative J147 ameliorates diabetic peripheral neuropathy in streptozotocin (STZ)-induced DPN rat models through negative regulation AMPK on TRPA1. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 33, n. 6, p. 533-541, 2018.

MARTELLI, L., RAGAZZI, E., DI MARIO, F., MARTELLI, M., CASTAGLIUOLO, I., DAL MASCHIO, M. & BRUN, P. A potential role for the vanilloid receptor TRPV1 in the therapeutic effect of curcumin in dinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis in mice. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 19, n. 8, p. 668-674, 2007.

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

MING-TATT, L.; KHALIVULLA, S.I.; AKHTAR, M.N.; MOHAMAD, A.S.; PERIMAL, E.K.; KHALID, M.H.; SULAIMAN, M.R. Antinociceptive Activity of a Synthetic Curcuminoid Analogue, 2,6-bis-(4-hydroxy-3-methoxybenzylidene) cyclohexanone, on Nociception-induced Models in Mice. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 110, n. 3, p. 275-282, 2012.

MOALLEM, S.A.; HOSSEINZADEH, H.; FARAHI, S. A study of acute and chronic anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of thiamine in mice. **Iranian Biomedical Journal**, v. 12, p. 173-178, 2008.

MONTEIRO, E.C.A.; TRINDADE, J.M.F.; DUARTE, A.L.B.P.; CHAHADE, W.H. Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). **Temas de Reumatologia Clínica**, v. 9, n. 2, p. 53-63, 2008.

MORRIS, Christopher J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. In: *Inflammation Protocols*. **Humana Press**, p. 115-121, 2003.

MOTAGHINEJAD, M.; BANGASH, M.Y.; HOSSEINI, P.; KARIMIAN, S.M.; MOTAGHINEJAD, O. Attenuation of morphine withdrawal syndrome by various dosages of curcumin in comparison with clonidine in mouse: possible mechanism. **Iranian Journal of Medical Sciences**, v. 40, n. 2, p. 125, 2015.

NATHAN, C.; DING, A. Nonresolving inflammation. **Cell** v.140, p.871–882, 2010.

NECAS, J.; BARTOSIKOVA, L. Carrageenan: a review. **Veterinarni Medicina**, v. 58, n. 4, 2013.

ONG, C.K.S.; LIRK, P.; TAN, C.H.; SEYMOUR, R.A. An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Clinical Medicine & Research**, v. 5, n. 1, p. 19-34, 2007.

ORR, P.M.; SHANK, B.C.; BLACK, A.C. The role of pain classification systems in pain management. **Critical Care Nursing Clinics of North America**. v. 29, n. 4, p. 407-418, 2017.

PRASAD, S.; TYAGI, A.K.; AGGARWAL, B.B. Recent developments in delivery, bioavailability, absorption and metabolism of curcumin: the golden pigment from golden spice. **Cancer Research and Treatment: Official Journal of Korean Cancer Association**, v.46, n. 1, p. 2, 2014.

QIAN, Y.; ZHONG, P.; LIANG, D.; XU, Z.; SKIBBA, M.; ZENG, C.; LIANG, G. A newly designed curcumin analog Y20 mitigates cardiac injury via anti-inflammatory and anti-oxidant actions in obese rats. **PLoS One**, v. 10, n. 3, 2015.

QIAN, J.; CHEN, X.; SHU, S.; ZHANG, W.; FANG, B.; CHEN, X.; LIANG, G. Design and synthesis novel di-carbonyl analogs of curcumin (DACs) act as potent anti-inflammatory agents against LPS-induced acute lung injury (ALI). **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 167, p. 414-425, 2019.

QUEIROZ-JUNIOR, C.M.; PACHECO, C.M.D.F.; FONSECA, A.H.; KLEIN, A.; CALIARI, M.V.; DE FRANCISCHI, J.N. Myeloperoxidase content is a marker of systemic inflammation in a chronic condition: the example given by the periodontal disease in rats. **Mediators of Inflammation**, v. 2009, 2009.

RAKARIYATHAM, K.; DU, Z.; YUAN, B.; GAO, Z.; SONG, M.; PAN, C.; XIAO, H. Inhibitory effects of 7, 7'-bromo-curcumin on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced skin inflammation. **European Journal of Pharmacology**, v. 858, p. 172479, 2019.

RYAN, G.B; MAJNO, G. Acute inflammation. A review. **The American Journal of Pathology**, v. 86, n.1, p. 183-276, 1977.

SALVEMINI, D.; WANG, Z.Q.; WYATT, P.S.; BOURDON, D.M.; MARINO, M.H.; MANNING, P.T.; CURRIE, M.G. Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. **British Journal of Pharmacology**, v. 118, n. 4, p. 829-838, 1996.

SANTIAGO, S.V.; SILVA, G.P.M.; RICARDO, D.D.; LIMA, M.E.F. Curcumin, the golden powder from turmeric: insights into chemical and biological activities. **Química Nova**, v. 38, n. 4, p. 538-552, 2015.

SCRIPTURE, C.D.; FIGG, W.D.; SPARREBOOM, A. Peripheral neuropathy induced by paclitaxel: recent insights and future perspectives. **Current Neuropharmacology**, v. 4, n. 2, p. 165-172, 2006.

SCHÜCHEN, R.H.; MÜCKE, M.; MARINOVA, M.; KRAVCHENKO, D.; HÄUSER, W.; RADBRUCH, L.; CONRAD, R. Systematic review and meta-analysis on non-opioid analgesics in palliative medicine. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 9, n. 7, p. 1235-1254, 2018.

SHARMA, S.; KULKARNI, S. K.; AGREWALA, J.N.; CHOPRA, K. Curcumin attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 536, n. 3, p. 256-261, 2006.

SHERWOOD, E.R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 18, p. 385-405, 2004.

SINGH, A.K.; VINAYAK, M. Resveratrol alleviates inflammatory hyperalgesia by modulation of reactive oxygen species (ROS), antioxidant enzymes and ERK activation. **Inflammation Research**, v. 66, n. 10, p. 911-921, 2017.

SISIGNANO, M.; BARON, R.; SCHOLICH, K.; GEISLINGER, G. Mechanism-based treatment for chemotherapy-induced peripheral neuropathic pain. **Nature Reviews Neurology**, v. 10, n. 12, p. 694, 2014.

SMITH, B.H.; J. LEE, J.; PRICE, C.; BARANOWSKI, A.P. Neuropathic pain: a pathway for care developed by the British Pain Society. **British Journal of Anaesthesia**, v.111, n.1, p.73-9, 2013.

SOMMER, C. Serotonin in pain and pain control. In: Handbook of behavioral neuroscience. Elsevier, p. 457-471, 2010.

SONG, I.H.; GOLD, R.; STRAUB, R.H.; BURMESTER, G.R.; BUTTGEREIT, F. New glucocorticoids on the horizon: repress, don't activate! **The Journal of Rheumatology**, v. 32, p. 1199-1207, 2005.

SUN, J.; CHEN, F.; BRAUN, C.; ZHOU, Y.Q.; RITTNER, H.; TIAN, Y.K.; YE, D.W. Role of curcumin in the management of pathological pain. **Phytomedicine**, v. 48, p. 129-140, 2018.

SZEBENI, G.J.; NAGY, L.I.; BERKÓ, A.; HOFFMANN, A.; FEHÉR, L.Z.; BAGYÁNSZKI, M.; PÓSA, A. The anti-inflammatory role of Mannich curcuminoids; special focus on colitis. **Molecules**, v. 24, n. 8, p. 1546, 2019.

TAJIK, H.; TAMADDONFARD, E.; HAMZEH-GOOSHCHI, N. The effect of curcumin (active substance of turmeric) on the acetic acid-induced visceral nociception in rats. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 11, n. 2, p. 312-314, 2008.

TOLJAN, K.; VROOMAN, B. Low-dose naltrexone (LDN)—review of therapeutic utilization. **Medical Sciences**, v. 6, n. 4, p. 82, 2018.

TOMA, W.; KYTE, S. L.; BAGDAS, D.; ALKHLAIF, Y.; ALSHARARI, S.D.; LICHTMAN, A.H.; DAMAJ, M.I. Effects of paclitaxel on the development of neuropathy and affective behaviors in the mouse. **Neuropharmacology**, v. 117, p. 305-315, 2017.

TORAYA, S.; UEHARA, O.; HIRAKI, D.; HARADA, F.; NEOPANE, P.; MORIKAWA, T.; CHIBA, I. Curcumin inhibits the expression of proinflammatory mediators and MMP-9 in gingival epithelial cells stimulated for a prolonged period with lipopolysaccharides derived from *Porphyromonas gingivalis*. **Odontology**, v. 108, n. 1, p. 16-24, 2020.

TSANTOULAS, C.; MCMAHON, S.B. Opening paths to novel analgesics: the role of potassium channels in chronic pain. **Trends in Neurosciences**, v. 37, n. 3, p. 146-158, 2014.

VIGUIER, F.; MICHOT, B.; HAMON, M.; BOURGOIN, S. Multiple roles of serotonin in pain control mechanisms - implications of 5-HT₇ and other 5-HT receptor types. **European Journal of Pharmacology**, v. 716, n. 1-3, p. 8-16, 2013.

VINEGAR, R.; TRUAX, J.F.; SELPH, J.L.; JOHNSTON, P.R.; VENABLE, A.L.; MCKENZIE, K.K. Pathway to carrageenan-induced inflammation in the hind limb of the rat. **Federation Proceedings**, v.46, p.118-26, 1987.

VIOLA, A.; LUSTER, A. D. Chemokines and their receptors: drug targets in immunity and inflammation. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 48, p. 171-197, 2008.

WALTERS, K.M.; WOESSNER, K.M. An overview of nonsteroidal antiinflammatory drug reactions. **Immunology and Allergy Clinics of North America**, v. 36, p. 625-641, 2016.

WANG, Y.; YU, C.; PAN, Y.; YANG, X.; HUANG, Y.; FENG, Z.; LIANG, G. A novel synthetic mono-carbonyl analogue of curcumin, A13, exhibits anti-inflammatory effects in vivo by inhibition of inflammatory mediators. **Inflammation**, v. 35, n. 2, p. 594-604, 2012.

WANG, Z.S.; CHEN, L.Z.; ZHOU, H.P.; LIU, X.H.; CHEN, F.H. Diarylpentadienone derivatives (curcumin analogues): Synthesis and anti-inflammatory activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 8, p. 1803-1807, 2017.

WOOLF, C.J.; SALTER, M.W. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. **Science**, v.288, p.1765-1769, 2000

WOOLF, C.J. Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic treatment. **Annals of Internal Medicine**, v. 140, n. 6, p. 441-451, 2004.

WOOLF, C.J. What is this thing called pain? **The Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 11, p. 3742-3744, 2010.

XIAO, Z.; XU, F.; ZHU, X.; BAI, B.; GUO, L.; LIANG, G.; ZHANG, B. Inhibition of JNK phosphorylation by curcumin analog C66 protects LPS-induced acute lung injury. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 13, p. 4161, 2019.

XIE, Z.; ZHANG, Z.; YU, S.; CHENG, D.; ZHANG, H.; HAN, C.; YE, F. Synthesis and Evaluation of Anti-inflammatory N-Substituted 3, 5-Bis (2-(trifluoromethyl) benzylidene) piperidin-4-ones. **ChemMedChem**, v. 12, n. 4, p. 327-336, 2017.

XU, M.; NI, H.; XU, L.; SHEN, H.; DENG, H.; WANG, Y.; YAO, M. B14 ameliorates bone cancer pain through downregulating spinal interleukin-1 β via suppressing neuron JAK2/STAT3 pathway. **Molecular Pain**, v. 15, p. 1744806919886498, 2019.

XU, J.; JIA, Z.; CHEN, A.; WANG, C. Curcumin ameliorates *Staphylococcus aureus*-induced mastitis injury through attenuating TLR2-mediated NF- κ B activation. **Microbial Pathogenesis**, v. 142, p. 104054, 2020.

ZHANG, Y.; GOLUB, L.; JOHNSON, F.; WISHNIA, A. pKa, zinc-and serum albumin-binding of curcumin and two novel biologically-active chemically-modified curcumins. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 25, p. 4367-4375, 2012.

ZHANG, Y.; ZHAO, L.; WU, J.; JIANG, X.; DONG, L.; XU, F.; LIANG, G. Synthesis and evaluation of a series of novel asymmetrical curcumin analogs for the treatment of inflammation. **Molecules**, v. 19, n. 6, p. 7287-7307, 2014.

ZHANG, Z.; LI, K. Curcumin attenuates high glucose-induced inflammatory injury through the reactive oxygen species–phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B–nuclear factor- κ B signaling pathway in rat thoracic aorta endothelial cells. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 9, n. 4, p. 731-740, 2018.

ZHANG, N.; LIU, Z.; LUO, H.; WU, W.; NIE, K.; CAI, L.; LV, M. FM0807 decelerates experimental arthritis progression by inhibiting inflammatory

responses and joint destruction via modulating NF- κ B and MAPK pathways. **Bioscience Reports**, v. 39, n. 9, 2019.

ZHAO, C.; YANG, J.; WANG, Y.; LIANG, D.; YANG, X.; LI, X.; LIANG, G. Synthesis of mono-carbonyl analogues of curcumin and their effects on inhibition of cytokine release in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 7, p. 2388-2393, 2010.

ZHAO, X.; XU, Y.; ZHAO, Q.; CHEN, C.R.; LIU, A.M.; HUANG, Z.L. Curcumin exerts antinociceptive effects in a mouse model of neuropathic pain: descending monoamine system and opioid receptors are differentially involved. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 2, p. 843-854, 2012.

ZHAO, C.; ZHANG, Y.; ZOU, P.; WANG, J.; HE, W.; SHI, D.; YANG, S. Synthesis and biological evaluation of a novel class of curcumin analogs as anti-inflammatory agents for prevention and treatment of sepsis in mouse model. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 9, p. 1663, 2015.

ZHU, X.; LI, Q.; CHANG, R.; YANG, D.; SONG, Z.; GUO, Q.; HUANG, C. Curcumin alleviates neuropathic pain by inhibiting p300/CBP histone acetyltransferase activity-regulated expression of BDNF and cox-2 in a rat model. **PloS One**, v. 9, n. 3, 2014.

ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, n. 2, p. 109-110, 1983.