UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA BIOLÓGICA - PPQB

ISABEL SOUSA ALCÂNTARA

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA, DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FARMACOLÓGICOS DA ASSOCIAÇÃO DE IBUPROFENO E LINALOL, ISOLADOS OU COMPLEXADOS EM HIDROXIPROPIL-β-CICLODEXTRINA, EM MODELOS ANIMAIS DE NOCICEPÇÃO E INFLAMAÇÃO

Crato-CE

2026

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA BIOLÓGICA

ISABEL SOUSA ALCÂNTARA

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA, DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FARMACOLÓGICOS DA ASSOCIAÇÃO DE IBUPROFENO E LINALOL, ISOLADOS OU COMPLEXADOS EM HIDROXIPROPIL-β-CICLODEXTRINA, EM MODELOS ANIMAIS DE NOCICEPÇÃO E INFLAMAÇÃO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Biológica, da Universidade Regional do Cariri, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutora em Química Biológica.

Orientador: Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes

Coorientador: Dr. Ricardo Neves Marreto

Crato-CE

2026

Ficha Catalográfica elaborada pelo autor através do sistema
de geração automático da Biblioteca Central da Universidade Regional do Cariri - URCA

Alcântara, Isabel Sousa

A347p PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA, DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FARMACOLÓGICOS DA ASSOCIAÇÃO DE IBUPROFENO E LINALOL, ISOLADOS OU COMPLEXADOS EM HIDROXIPROPIL-β-CICLODEXTRINA, EM MODELOS ANIMAIS DE NOCICEPÇÃO E INFLAMAÇÃO / Isabel Sousa Alcântara. Crato - CE, 2026.

158p. il.

Tese. Programa de Pós-Graduação em Química Biológica da Universidade Regional do Cariri - URCA.

Orientador(a): Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes

Coorientador(a): Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto

1.Linalol, 2.Ibuprofeno , 3.Nocicepção, 4.Associação, 5.Hidroxipropil-β-Ciclodextrina; I.Título.

CDD: 571.95

ISABEL SOUSA ALCÂNTARA

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA, DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FARMACOLÓGICOS DA ASSOCIAÇÃO DE IBUPROFENO E LINALOL, ISOLADOS OU COMPLEXADOS EM HIDROXIPROPIL-β-CICLODEXTRINA, EM MODELOS ANIMAIS DE NOCICEPÇÃO E INFLAMAÇÃO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Biológica, da Universidade Regional do Cariri, como requisito necessário para obtenção do Título de Doutora em Química Biológica.

Relatório de defesa/ Tese defendida e aprovada em: __09_/_02__/_2026__

BANCA EXAMINADORA

ICP Brasil
Documento assinado digitalmente
IRWIN ROSE ALENCAR DE MENEZES
Data: 09/02/2026 18:00:29-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes
Orientador – URCA

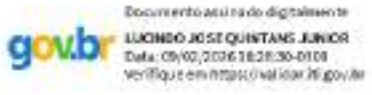
gov.br
Documento assinado digitalmente
RICARDO NEVES MARRETO
Data: 09/02/2026 18:00:57-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto
Coorientador – UFG



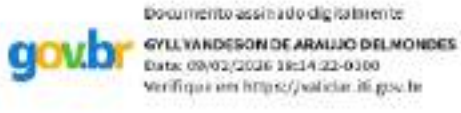
Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho

Membro Titular Interno – URCA



Prof. Dr. Lucindo José Quintans Júnior

Membro Titular Interno – URCA



Prof. Dr. Gyllyandeson de Araújo Delmondes

Membro Titular Externo – UNIVASF



Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley

Membro Titular Externo – UNIFESP

Dedico este trabalho aos meus avós João Correia (In memoriam) e Alboina Fernandes (In memoriam), por todo amor e dedicação que me destinaram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força, sabedoria e proteção que me guiaram em cada etapa desta jornada.

Aos meus pais, Francisca Sousa e Ézio Alcântara, pelo amor incondicional, apoio constante e por acreditarem em mim em todos os momentos. À minha irmã Íris Sousa, pela cumplicidade, incentivo e por estar sempre ao meu lado.

Aos meus avós, João Correia (*In memoriam*) e Alboína Fernandes (*In memoriam*), que acompanharam parte da minha trajetória no doutorado e que, tenho certeza, sempre estiveram olhando por mim.

Ao meu namorado, Felipe Henrique, pelo carinho, paciência e apoio incondicional, que foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

À toda minha família, tios, tias e primos, pelo apoio, amor e compreensão ao longo de toda essa jornada. Cada um de vocês contribuiu de maneira única para o meu crescimento.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Irwin Menezes, pela orientação valiosa, paciência e dedicação ao longo deste trabalho e dos 13 anos de trajetória no laboratório.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Ricardo Neves, pela colaboração e contribuição essencial para o desenvolvimento deste estudo.

À Dra. Anita Oliveira e Me. Lucas Yure, meus amigos queridos, pelo apoio, amizade e momentos de incentivo que sempre tornaram minha jornada mais leve e significativa.

Aos amigos do Laboratório de Farmacologia e Química Molecular (LFQM): Thayna Morais, Mariana Silva, Mariana Carvalho, Aparecida Silva, Alicia Narciso, Bruno Fernandes, Roger Henrique, Renata Pessoa, Eduardo Santos, Maria Gabriely, Gustavo Miranda e Silvio Júnior, pela ajuda, colaboração, companheirismo e amizade ao longo desta trajetória, cuja contribuição foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho e para tornar este caminho mais leve.

Aos colegas do Laboratório de Nanosistemas e Dispositivos de Liberação Modificada de Fármacos (NanoSYS) da UFG, à Profa. Dra. Stephânia Fleury e, em especial, ao Dr. Gleidson Cardoso, pela colaboração, receptividade e troca de conhecimentos que enriqueceram muito minha jornada.

Aos meus amigos e amigas: Débora Menezes, Isadora Gomes, Samily Primo, Rayanne Sales, Ana Gabriela, Isaac Moura, e Luís Pereira, pela amizade, apoio e pelas conversas que sempre me motivaram a seguir em frente.

A ciência avança, muitas vezes, em silêncio. Este trabalho reconhece, com respeito, a contribuição dos animais de experimentação, sem os quais parte do conhecimento aqui produzido não seria possível.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior **(**CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Financiadora de Estudos e Projetos - FINEP a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pelos suportes financeiros, que possibilitaram a realização deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química Biológica, pelo ensino de qualidade e por contribuírem significativamente para minha formação.

Ao LFQM, LPPN e NanoSYS.

À Universidade Federal de Goiás, pela oportunidade e suporte.

À Universidade Regional do Cariri pelo suporte.

Gratidão a todos que, de alguma forma, fizeram parte dessa conquista!

"O conhecimento é a única propriedade que ninguém pode tirar de você."

Thomas Jefferson

Figura 1: Fluxograma com a organização geral da estrutura da tese.....23

Figura 2: Representação esquemática das principais alterações vasculares e celulares no processo inflamatório.....26

Figura 3: Representação dos mecanismos básicos da dor: lesão tecidual, liberação de mediadores químicos e transmissão do estímulo doloroso.....29

Figura 4: Estrutura química do linalol ($C_{10}H_{18}O$) 31

Figura 5: Estrutura química do ibuprofeno ($C_{13}H_{18}O_2$) 32

Figura 6: (a) Estrutura da *β*-ciclodextrina (b) hidroxi-propil-*β*-ciclodextrina.....34

CAPÍTULO I.....37

Figura 1: Fluxograma ilustrando a busca na literatura de acordo com as diretrizes PRISMA.....41

Tabela 1: Artigos incluídos na revisão sistemática que avaliaram a combinação de compostos naturais com fármacos sintéticos, destacando o tipo de atividade biológica, o modelo experimental, as doses utilizadas e os principais desfechos observados.....42

Figura 2: Distribuição das classes de produtos naturais (a) e das classes de fármacos sintéticos (b) entre os artigos analisados.....46

Figura 3: Distribuição percentual das atividades farmacológicas relatadas nos artigos.....47

Figura 4: Distribuição dos efeitos de interação observados nos estudos que avaliaram combinações de produtos naturais com fármacos.....47

Figura 5: Combinações entre compostos naturais e fármacos sintéticos e os principais mecanismos de ação envolvidos.....48

Figura 6: A escala de risco de viés indica a proporção de artigos que atenderam a cada critério.....50

Figura 7: Meta-análise dos efeitos antinociceptivos da associação entre produtos naturais e fármacos sintéticos.....68

Figura 8: Meta-análise dos efeitos anti-inflamatórios da associação entre produtos naturais e fármacos sintéticos.....68

Figura 9: Meta-análise dos efeitos gastroprotetores da associação entre produtos naturais e fármacos sintéticos.....69

Figura 10: Fluxograma representando o processo de identificação, triagem e seleção de patentes de acordo com as diretrizes PRISMA.....70

Tabela 2: Patentes incluídas na revisão sistemática que investigou a combinação de compostos naturais e fármacos sintéticos.....71

Figura 11: Número de famílias de patentes e os anos de concessão.....74

Figura 12: Número de famílias de patentes concedidas por ano, distribuídas de acordo com o país de origem.....75

Figura 13: Distribuição das classes de produtos naturais (a) e das classes de fármacos sintéticos (b) entre os estudos analisados.....76

Figura 14: Distribuição percentual das atividades farmacológicas relatadas nas patentes.....76

Figura 15: Distribuição dos efeitos de interação observados nas patentes.....77

Figura 16: Mapa bibliométrico de co-ocorrência de termos, construído com o VOSviewer, destacando a estrutura conceitual dos artigos e patentes sobre interações entre compostos naturais e agentes sintéticos.....78

CAPÍTULO II.....70

Figura 1: Caracterizações térmica, espectroscópica e difratométrica dos complexos de linalol-hidroxipropil-β-ciclodextrina (US) e misturas físicas (PM). (a) e (b) Curvas de TG; (c) Espectros de FTIR; (d) Gráficos de DRX.....80

Figura 2: Caracterizações térmica, espectroscópica e difratométrica dos complexos de ibuprofeno-hidroxipropil-*β*-ciclodextrina (US) e misturas físicas (PM). (a) Curvas de TG; (b) Curvas de DSC; (c) Espectros de FTIR; (d) Gráficos de DRX.....81

Figura 3: Solubilidade em água de linalol e ibuprofeno a partir dos complexos com HPβCD.....82

Figura 4: Liberação *in vitro* de linalol e ibuprofeno a partir de complexos de ciclodextrina preparados nas proporções molares 1:1 e 2:1 droga: ciclodextrina.....83

Tabela 1. Percentual de liberação do fármaco, fluxo e coeficiente de correlação do modelo cinético mais adequado (modelo de Higuchi).....83

Figura 5: Efeito de IBU, LIN, LIN+IBU (a), IBU:HP*β* (1:1 e 2:1); LIN:HP*β* (1:1 e 2:1); IBU:HPβ+LIN: HP*β* (1:1 e 2:1) (b e c) no número de contorções abdominais induzidas por ácido acético.....84

Figura 6: Efeito de IBU, LIN, LIN+IBU, IBU:HP*β* (1:1 e 2:1); LIN:HP*β* (1:1 e 2:1); IBU:HP*β*+LIN:HP*β* (1:1 e 2:1) no tempo de lambedura da pata no teste de formalina em camundongos.....87

Figura 7: Efeito da hipernocicepção induzida por CFA avaliada pelo teste de Von Frey para IBU, LIN e LIN+IBU (a); IBU:HP*β* (1:1 e 2:1); LIN:HP*β* (1:1 e 2:1); IBU:HP*β*+LIN:HP*β* (1:1 e 2:1) (b e c); IBU+LIN; IBU:HP*β*+LIN:HP*β* (1:1 e 2:1) (d).....90

CAPÍTULO III.....96

Tabela 1: Grupos experimentais e seus respectivos tratamentos administrados aos camundongos.....99

Figura 1: Perfil GC/FID do padrão linalool (RT: 6.617). Curva de calibração: y = 876,56x -50413 (r^2 = 0,9988).....104

Figura 2: Perfil GC/FID do padrão ibuprofeno (RT: 12.807). Curva de calibração: y = 878,43x – 116169 (r^2 = 0,9901).....105

Figura 3: Perfil GC/FID do LIN:HP*β* 1:1 (RT: 6.617)…….....……..106

Figura 4: Perfil GC/FID do IBU:HP*β* 1:1 (RT: 12.807).....106

Figura 5: Perfil GC/FID do LIN:HP*β* 2:1 (RT: 6.617).....107

Figura 6: Perfil GC/FID do IBU:HP*β* 2:1 (RT:12.807).....107

Tabela 2: Concentração de LIN em complexos 1:1 e 2:1 com HPβ:CD determinada por GC/FID...108

Tabela 3: Concentração de IBU em complexos 1:1 e 2:1 determinada por GC/FID.....108

Figura 7: Efeito do ibuprofeno (IBU, 62 mg/kg), linalool (LIN, 10,8 mg/kg), IBU + LIN (62 + 10,8 mg/kg), IBU:HPβ (62 mg/kg), LIN:HPβ (10,8 mg/kg) e IBU:HPβ + LIN:HPβ (62 + 10,8 mg/kg), na razão molar 1:1, sobre o edema de pata induzido por injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos.....110

Figura 8: Efeito do IBU (62 mg/kg), LIN (10,8 mg/kg), IBU + LIN (62 + 10,8 mg/kg), IBU:HPβ (62 mg/kg), LIN:HPβ (10,8 mg/kg) e IBU:HPβ + LIN:HPβ (62 + 10,8 mg/kg) (razão molar 1:1) a mieloperoxidase (MPO) e a contagem de leucócitos totais no lavado peritoneal.....112

Figura 9: Efeito do ibuprofeno (IBU, 62 mg/kg), linalol (LIN, 10,8 mg/kg), IBU + LIN (62 + 10,8 mg/kg), IBU:HP*β* (62 mg/kg), LIN:HP*β* (10,8 mg/kg) e IBU:HP*β* + LIN:HP*β* (62 + 10,8 mg/kg) (razão molar 1:1), sobre os níveis de malondialdeído (MDA).....114
Figura 10: Efeito do ibuprofeno (IBU, 62 mg/kg), linalol (LIN, 10,8 mg/kg) e da associação IBU+LIN (62 + 10,8 mg/kg) sobre o edema ao longo de 21 dias.....115
Figura 11: Efeito dos complexos IBU:HPβ (62 mg/kg), LIN:HPβ (10,8 mg/kg) e da associação IBU:HPβ + LIN:HPβ (62+10,8 mg/kg), na razão molar 1:1 sobre o edema ao longo de 21 dias.....116
Figura 12: Efeito dos complexos IBU:HPβ (62 mg/kg), LIN:HPβ (10,8 mg/kg) e da associação IBU:HPβ + LIN:HPβ (62+10,8 mg/kg), na razão molar 2:1 sobre o edema ao longo de 21 dias.....117

APÊNDICE I: RESULTADOS SUPLEMENTARES DO CAPÍTULO I.....129
Figura 1: Curvas de DSC dos complexos e misturas físicas contendo linalol e hidroxipropil-*β*-ciclodextrina.....137
Tabela 1: Porcentagens de inibição em comparação ao grupo controle negativo.....138

ANEXO I: PARECER DA AUTORIZAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA E PESQUISA ANIMAL (CEUA/URCA).....139

ANEXO II: PRODUÇÕES CIENTÍFICAS (2022 a 2024).....140

ANEXO III: DECLARAÇÃO DE DEPOSITO DA PATENTE.....144

AINEs –	Anti-inflamatórios não esteroides
ATR –	Reflectância Total Atenuada
BCS –	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
CFA –	Adjuvante Completo de Freund
CD –	Ciclodextrina
COX –	Ciclooxigenase
DSC –	Calorimetria diferencial de varredura
DRX –	Difratometria de raios X
ED_{50}	Dose efetiva
FTIR –	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
HPβCD –	hidroxipropil-beta-ciclodextrina
IBU –	Ibuprofeno
IBU:HPβ –	Ibuprofeno complexado em hidroxipropil-beta-ciclodextrina
IL –	Interleucina
Inos –	Óxido Nítrico Sintase Induzível
LIN –	Linalol
LIN:HPβ –	linalol complexado em hidroxipropil-beta-ciclodextrina
LOD –	Limite de Detecção
LOQ –	Limite de Quantificação
MPO –	Mieloperoxidase
MDA –	Malonaldeído
NO –	Óxido nítrico
PM –	Misturas Físicas
PAF –	Fator de Ativação Plaquetária
PGE_2	Prostaglandina E_2
SNC –	Sistema Nervoso Central
OMS –	Organização Mundial da Saúde
TNF-α –	Fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

Item	Assunto	Página
	IMPORTÂNCIA/RELEVÂNCIA PARA A SOCIEDADE	20
1	**INTRODUÇÃO GERAL**	21
1.1	ESTRATÉGIAS DE PESQUISA	21
1.2	ESTRUTURA DA TESE	22
2	**OBJETIVOS**	24
2.1	Objetivo geral	24
2.2	Objetivos específicos	24
2.3	Objetivos e questionamentos	24
3	**FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**	26
3.1	Considerações sobre inflamação e estresse oxidativo	26
3.2	Considerações sobre dor e nocicepção	28
3.3	Os terpenos e o linalol	30
3.4	O ibuprofeno	32
3.5	As ciclodextrinas	33
3.6	Mecanismos e implicações terapêuticas na combinação de produtos naturais com fármacos	35
4	**PRODUÇÃO CIENTÍFICA**	37
4.1	CAPÍTULO I: Estratégias na farmacoterapia com produtos naturais como potenciais moduladores da eficácia de fármacos sintéticos: uma revisão sistemática de evidências experimentais e de patentes.	37
4.2	CAPÍTULO II: Alívio da dor potencializado: efeitos do ibuprofeno e linalol com complexação por hidroxipropil-β-ciclodextrina em modelos de camundongos	70

4.3 CAPÍTULO III: Modulação do estresse oxidativo e da resposta inflamatória da administração e coadministração de ibuprofeno e linalol isolados e seus complexos em hidroxipropril-β-ciclodextrina. 96

4.4 CAPÍTULO IV: Relatório de deposito da patente intitulado: “Composições farmacêuticas anti-inflamatórias e analgésicas: sinergismo, solubilidade, e processo de obtenção para o tratamento da dor aguda e crônica”. 124

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS 125

5.1 Aspectos gerais da produção científica 125

5.2 Conclusões gerais 126

5.3 Perspectivas de investigações futuras 126

6 REFERÊNCIAS 128

7 APÊNDICES E ANEXOS 137

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA, DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FARMACOLÓGICOS DA ASSOCIAÇÃO DE IBUPROFENO E LINALOL, ISOLADOS OU COMPLEXADOS EM HIDROXIPROPIL-β-CICLODEXTRINA, EM MODELOS ANIMAIS DE NOCICEPÇÃO E INFLAMAÇÃO

RESUMO

A combinação de produtos naturais com fármacos convencionais para o tratamento da dor e de condições inflamatórias pode aumentar a eficácia terapêutica e, ao mesmo tempo, reduzir efeitos adversos, uma vez que compostos naturais podem modular múltiplas vias de sinalização envolvidas nas respostas nociceptivas. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar complexos de inclusão de ibuprofeno (IBU) e linalol (LIN) com hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD), bem como avaliar os efeitos farmacológicos desses compostos administrados isoladamente ou em associação em modelos animais de nocicepção e inflamação. Os complexos sólidos de inclusão foram preparados por ultrassonicação nas razões molares de 1:1, 2:1 e 4:1, e caracterizados por técnicas térmicas, difratométricas, espectroscópicas e cromatográficas. Também foram realizados ensaios de solubilidade e estudos de liberação in vitro. Os experimentos in vivo foram conduzidos em camundongos Swiss (Mus musculus), após administração oral. Os efeitos sobre o sistema nervoso central (SNC) foram avaliados pelos testes de campo aberto e rota-rod. A atividade antinociceptiva foi avaliada nos testes de formalina e de contorções abdominais, enquanto a hiperalgesia mecânica foi induzida por Adjuvante Completo de Freund (CFA) e mensurada pelo teste de von Frey. A atividade anti-inflamatória foi investigada nos modelos de edema de pata induzido por carragenina e peritonite aguda, por meio da avaliação do recrutamento leucocitário e da atividade da mieloperoxidase (MPO). A peroxidação lipídica em tecidos inflamados por CFA foi determinada pela quantificação de malondialdeído (MDA), e o edema crônico foi monitorado por 21 dias por pletismometria. Os complexos LIN–HP-β-CD apresentaram eficiências de complexação de 82,9%, 94,1% e 101,7%, enquanto os complexos IBU–HP-β-CD exibiram eficiências de 80,7%, 74,7% e 95,6% nas razões molares de 4:1, 2:1 e 1:1, respectivamente, com os valores normalizados para a eficiência máxima de complexação. A análise cromatográfica indicou que o LIN apresentou maior eficiência de complexação na razão 1:1 (20,8%) do que na 2:1 (18,7%), enquanto o IBU apresentou maior incorporação na razão 2:1 (45,9%) do que na 1:1 (32,3%). Os complexos de LIN nas razões 1:1 e 2:1 foram selecionados para avaliação adicional porque proporcionaram o maior aumento de solubilidade com menor demanda de linalol, representando a relação custo-benefício mais

favorável entre as condições testadas. Os estudos de liberação in vitro mostraram que não houve diferença significativa na liberação de IBU, enquanto o LIN foi liberado mais rapidamente e em maior quantidade a partir do complexo 1:1. A coadministração dos compostos livres ou complexados não produziu alterações significativas na função do SNC ou na atividade locomotora. No teste da formalina, IBU + LIN (62/10,8 mg/kg), IBU:HPβ + LIN:HPβ (1:1) e IBU:HPβ + LIN:HPβ (2:1) reduziram a hiperalgesia em 59,1%, 69,4% e 63,4% na primeira fase, e em 69,6%, 77,2% e 74,1% na segunda fase, respectivamente. No ensaio de contorções, na hiperalgesia mecânica induzida por CFA e no edema crônico induzido por CFA, as reduções observadas foram de 56,6%, 75,0% e 69,9%; 40,4%, 56,7% e 64,5%; e 54,3%, 58,3% e 55,4%, respectivamente, ao longo de 21 dias. No modelo de edema de pata induzido por carragenina, IBU + LIN e IBU:HPβ + LIN:HPβ (1:1) inibiram a formação de edema em 63,4% e 71,0%, respectivamente. Além disso, a coadministração dos compostos livres e complexados na razão molar 1:1 reduziu significativamente a atividade da MPO, o recrutamento leucocitário e o estresse oxidativo, avaliado pelos níveis de MDA. Em conjunto, esses achados indicam que a combinação de linalol com ibuprofeno representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de novas terapias analgésicas e anti-inflamatórias. Além disso, a complexação com HP-β-CD melhorou a biodisponibilidade dos compostos ativos, aumentando sua eficácia terapêutica.

Palavras-Chave: Linalol; ibuprofeno; nocicepção; dor; inflamação; Associação; Hidroxipropil-*β*-Ciclodextrina.

Agradecimentos: CNPq, CAPES, FAPEG, FUNCAP e FINEP.

TECHNOLOGICAL PROSPECTION, PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT AND EVALUATION OF THE PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF THE ASSOCIATION OF IBUPROFEN AND LINALOOL, ISOLATED OR COMPLEXED WITH HYDROXYPROPYL-β-CYCLODEXTRIN, IN ANIMAL MODELS OF NOCICEPTION AND INFLAMMATION

ABSTRACT

The combination of natural products with conventional drugs for the treatment of pain and inflammatory conditions may enhance therapeutic efficacy while reducing adverse effects, as natural compounds can modulate multiple signaling pathways involved in nociceptive responses. In this context, the present study aimed to develop and characterize inclusion complexes of ibuprofen (IBU) and linalool (LIN) with hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD), and to evaluate the pharmacological effects of these compounds administered alone or in combination in animal models of nociception and inflammation. Solid inclusion complexes were prepared by ultrasonication at molar ratios of 1:1, 2:1, and 4:1, and characterized by thermal, diffractometric, spectroscopic, and chromatographic techniques. Solubility assays and in vitro release studies were also performed. In vivo experiments were conducted in Swiss mice (*Mus musculus*) following oral administration. Central nervous system (CNS) effects were assessed using the open-field and rota-rod tests. Antinociceptive activity was evaluated in the formalin and abdominal writhing tests, whereas mechanical hyperalgesia was induced by Complete Freund's Adjuvant (CFA) and measured using the von Frey test. Anti-inflammatory activity was investigated in carrageenan-induced paw edema and acute peritonitis models through the assessment of leukocyte recruitment and myeloperoxidase (MPO) activity. Lipid peroxidation in CFA-inflamed tissues was determined by malondialdehyde (MDA) quantification, and chronic edema was monitored for 21 days by plethysmometry. The LIN–HP-β-CD complexes showed complexation efficiencies of 82.9%, 94.1%, and 101.7%, whereas IBU–HP-β-CD complexes exhibited efficiencies of 80.7%, 74.7%, and 95.6% at molar ratios of 4:1, 2:1, and 1:1, respectively, with values normalized to maximum complexation efficiency. Chromatographic analysis indicated that LIN showed higher complexation efficiency at the 1:1 ratio (20.8%) than at 2:1 (18.7%), whereas IBU showed greater incorporation at 2:1 (45.9%) than at 1:1 (32.3%). The 1:1 and 2:1 LIN complexes were selected for further evaluation because they provided the greatest improvement in solubility with lower linalool demand, representing the most favorable cost–benefit ratio among the tested conditions. In vitro release studies showed no significant

difference in IBU release, whereas LIN was released more rapidly and to a greater extent from the 1:1 complex. Coadministration of the free or complexed compounds did not produce significant alterations in CNS function or locomotor activity. In the formalin test, IBU + LIN (62/10.8 mg/kg), IBU:HPβ + LIN:HPβ (1:1), and IBU:HPβ + LIN:HPβ (2:1) reduced hyperalgesia by 59.1%, 69.4%, and 63.4% in the first phase, and by 69.6%, 77.2%, and 74.1% in the second phase, respectively. In the writhing assay, CFA-induced mechanical hyperalgesia, and CFA-induced chronic edema, the observed reductions were 56.6%, 75.0%, and 69.9%; 40.4%, 56.7%, and 64.5%; and 54.3%, 58.3%, and 55.4%, respectively, over 21 days. In the carrageenan-induced paw edema model, IBU + LIN and IBU:HPβ + LIN:HPβ (1:1) inhibited edema formation by 63.4% and 71.0%, respectively. Moreover, coadministration of the free and complexed compounds at the 1:1 molar ratio significantly reduced MPO activity, leukocyte recruitment, and oxidative stress, as assessed by MDA levels. Overall, these findings indicate that the combination of linalool with ibuprofen represents a promising strategy for the development of novel analgesic and anti-inflammatory therapies. In addition, HP-β-CD complexation improved the bioavailability of the active compounds, thereby enhancing their therapeutic efficacy.

.

.

Keywords: Linalool; ibuprofen; nociception; pain; inflammation; association; hydroxypropyl-β-cyclodextrin.

Acknowledgements: CNPq, CAPES, FAPEG, FUNCAP e FINEP.

IMPORTÂNCIA/RELEVÂNCIA PARA A SOCIEDADE

A dor é uma condição frequente que afeta milhões de pessoas em todo o mundo e pode comprometer de forma significativa a qualidade de vida, interferindo no trabalho, no sono, na mobilidade e nas atividades do dia a dia. Embora existam tratamentos eficazes disponíveis, muitos deles estão associados a limitações importantes, especialmente quando utilizados por períodos prolongados, como irritação gastrointestinal, necessidade de aumento progressivo das doses, desenvolvimento de tolerância ou dependência, além de restrições ao uso crônico. Nesse contexto, o presente estudo investigou uma abordagem experimental baseada na associação entre o ibuprofeno (IBU), um fármaco amplamente utilizado no alívio da dor e da inflamação, e o linalol (LIN), um composto natural presente em óleos essenciais com propriedades analgésicas e anti-inflamatórias. Além da administração dos compostos em suas formas livres, essa associação também foi avaliada na forma de complexos com hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD), um excipiente amplamente empregado na indústria farmacêutica por sua capacidade de aumentar a solubilidade, a estabilidade e a biodisponibilidade de princípios ativos. A complexação com ciclodextrinas pode favorecer a absorção, reduzir a toxicidade sistêmica e promover uma liberação mais controlada dos compostos, potencializando seus efeitos farmacológicos e permitindo, potencialmente, a redução das doses terapêuticas necessárias. Nesse sentido, a HPβCD apresenta vantagens em relação à β-ciclodextrina, como maior solubilidade em água, menor tendência à cristalização e melhor capacidade de formar complexos de inclusão com compostos hidrofóbicos, características que favorecem o aumento da estabilidade e da eficácia terapêutica dos ativos. Os resultados obtidos indicaram que a administração conjunta de ibuprofeno e linalol, tanto na forma livre quanto complexada, foi capaz de reduzir sinais de dor e inflamação sem provocar alterações significativas no comportamento ou na coordenação motora dos animais. Embora esta pesquisa ainda se encontre em etapa pré-clínica, os achados sugerem que essa estratégia pode representar uma alternativa promissora para o manejo da dor aguda e crônica, especialmente em situações que exigem uso contínuo de analgésicos. Dessa forma, o estudo contribui para o avanço do desenvolvimento de terapias potencialmente mais seguras e eficazes, com perspectiva de impacto positivo na qualidade de vida dos pacientes.

1.1 ESTRATÉGIAS DE PESQUISA

A dor e os esforços para aliviá-la sempre fizeram parte da experiência humana, moldando a medicina e impulsionando a busca por soluções terapêuticas inovadoras (Steinmetz, 2022). Ao longo da história, os tratamentos evoluíram, mas a necessidade de abordagens mais eficazes, seguras e acessíveis continua a desafiar a ciência (Langevin, 2024).

A hipótese deste estudo fundamenta-se nas premissas de que o linalol (LIN) possui efeito antinociceptivo, conforme comprovado na literatura, tanto em sua forma isolada quanto complexada (Quintans-Júnior *et al*., 2013), enquanto o ibuprofeno (IBU), utilizado clinicamente apresenta efeito analgésico, amplamente utilizado na sociedade (Cajaraville, 2021). Vários estudos têm demonstrado que o uso de ciclodextrinas (CDs) podem reduzir a dose nominal de princípios ativos e melhorando a eficácia, especialmente de terpenos e melhorar seu perfil analgésico e anti-inflamatório (Araújo-Filho et al., 2017; Carneiro et al., 2019; Lima et al., 2016; Quintans-Júnior et al., 2013). Dessa forma, com base em evidências obtidas por meio de busca sistematizada na literatura científica e em bases de patentes, o presente estudo parte da hipótese de que a associação entre linalol e ibuprofeno constitui uma estratégia promissora do ponto de vista farmacológico e farmacotecnológico. Nesse contexto, propõe-se que o desenvolvimento de complexos de inclusão desses compostos com ciclodextrinas (CD), especialmente com o objetivo de aprimorar a solubilidade, a estabilidade e a biodisponibilidade, possa permitir a redução das doses necessárias, com otimização dos efeitos analgésicos, potencialização da eficácia terapêutica e diminuição de possíveis efeitos indesejáveis.

Visando avaliar o impacto da solubilidade sobre a eficácia terapêutica, a hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD) foi selecionada como estratégia farmacotécnica para melhorar a baixa solubilidade de compostos lipofílicos (Jarho; Urtti; Järvinen, 1995). Esta característica físico-química pode limitar sua dissolução no trato gastrointestinal, comprometer a absorção oral e, consequentemente, restringir a magnitude do efeito in vivo. Nesse contexto, a complexação com HPβCD não foi empregada apenas como recurso tecnológico para aumentar a solubilidade aquosa, mas como parte integrante do raciocínio experimental, ao possibilitar alterações na cinética de dissolução e liberação dos compostos. Tais modificações podem repercutir em seu perfil farmacocinético, influenciando a intensidade e a duração das respostas antinociceptiva e anti-inflamatória. Assim, considerando que a eficácia da associação entre linalol (LIN) e ibuprofeno (IBU) depende de exposição sistêmica adequada para revelar potenciais efeitos aditivos ou sinérgicos, a HPβCD foi utilizada como ferramenta farmacotécnica para testar uma hipótese farmacológica. Desse modo, estabelece-se um encadeamento lógico entre forma farmacêutica, biodisponibilidade, efeito

biológico e relevância terapêutica, no qual a complexação pode representar um fator determinante para a otimização da resposta terapêutica. A hidroxipropil-β-ciclodextrina destaca-se na complexação de terpenos alcoólicos em comparação aos terpenos hidrocarbonetos, pois a presença do grupo hidroxila nos terpenos alcoólicos favorece interações intermoleculares adicionais, como ligações de hidrogênio, resultando em maior afinidade, estabilidade do complexo e, consequentemente, melhor incremento de solubilidade e biodisponibilidade (Carneiro et al., 2019). Assim, a complexação individual do LIN e IBU em HPβCD pode favorecer a otimização do desempenho farmacológico e contribuir para a avaliação de possíveis efeitos aditivos decorrentes da associação proposta, permitindo avaliar de forma mais precisa a otimização desses compostos.

Para a realização deste trabalho, inicialmente foram adquiridos LIN e IBU da Sigma-Aldrich. Em seguida, os complexos sólidos foram preparados por ultrassonicação utilizando diferentes razões molares terpeno:HP*β*CD ou IBU:HP*β*CD (1:1, 2:1 e 4:1), com o objetivo de otimizar a interação entre os compostos e a ciclodextrina (Rodríguez-López *et al*., 2020).

A caracterização dos complexos foi realizada por meio da calorimetria diferencial de varredura (DSC), técnica utilizada para avaliar alterações térmicas e identificar modificações nos picos de fusão dos compostos, indicativas da formação dos complexos de inclusão (Craig; Reading, 2006). A difratometria de raios X (DRX) foi empregada para determinar mudanças no estado físico dos materiais, permitindo verificar se o complexo formado apresenta estrutura cristalina ou amorfa (Warren, 1990). A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para identificar interações intermoleculares entre os compostos e a ciclodextrina, como a formação de ligações de hidrogênio, por meio de alterações nas bandas de absorção características (Dutta, 2017).

Ensaios *in vitro* de solubilidade foram realizados com o objetivo de avaliar a melhoria na dissolução dos fármacos. Em seguida, foram conduzidos estudos de liberação em célula de difusão de Franz, visando investigar o perfil de liberação dos compostos nos complexos preparados e selecionar aquele mais adequado para a realização dos ensaios subsequentes (Loftsson; Brewster, 2012; Mader; Higuchi, 1970).

Nos ensaios *in vivo*, foram avaliados a ação no sistema nervoso central, por meio dos testes de rota rod (Dunham; Miya, 1957) e campo aberto (Archer, 1973). Além disso, foi realizada uma triagem farmacológica utilizando o teste da formalina a 2,5% (Tjølsen *et al*., 1992) e o modelo de nocicepção visceral induzida por ácido acético (Koster, 1959). A resposta nociceptiva crônica foi avaliada por meio da hiperalgesia mecânica induzida pelo Adjuvante Completo de Freund (CFA), uma suspensão composta por óleo mineral e micobactérias inativadas. A avaliação dos animais foi realizada ao longo de 21 dias, utilizando o teste de Von Frey para mensurar a hiperalgesia mecânica (Martinov *et al*., 2013; Tena *et al*., 2012).

Os efeitos anti-inflamatórios foram avaliados em modelos agudos, por meio da indução de edema de pata com carragenina a 1%, bem como pela determinação da atividade da mieloperoxidase e da contagem total de leucócitos utilizando o modelo de peritonite (Bradley *et al*., 1982). O estresse oxidativo foi avaliado pela quantificação dos níveis de malondialdeído (MDA) nos tecidos, normalizados pelo teor de proteínas (Ohkawa; Ohishi; Yagi, 1979). Posteriormente, a atividade anti-inflamatória em modelo crônico foi investigada por meio da indução de edema de pata com adjuvante completo de Freund (CFA) ao longo de 21 dias, com a mensuração do edema da pata realizada por pletismometria (Martinov *et al*., 2013; Tena *et al*., 2012).

O tamanho amostral foi determinado com base em estudos prévios da literatura e em experimentos piloto, de modo a assegurar poder estatístico adequado. Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (SEM). Os dados foram analisados por ANOVA de efeitos mistos ou análise de variância unidirecional ou bidirecional ANOVA (ANOVA), seguida do teste de comparações múltiplas de *Tukey, Sidak, Bonferroni ou Dunnett*, apropriado para comparações diretas entre os grupos. Todas as análises foram conduzidas utilizando o software GraphPad Prism (versão 8.0), adotando-se $p < 0,05$ como nível de significância estatística.

1.2 ESTRUTURA DA TESE

Esta tese está organizada em: Introdução geral (dividida em estratégias de pesquisa e estrutura da tese); Objetivos (divididos em objetivos geral, objetivos específicos e objetivos e questionamentos); Fundamentação teórica (que abrange seguintes tópicos: Considerações sobre inflamação e estresse oxidativo, Considerações sobre dor e nocicepção, Os Terpenos e o linalol, O ibuprofeno, As ciclodextrinas, e Mecanismos e implicações terapêuticas na combinação de produtos naturais com fármacos) e produção científica (Capítulo I, Capítulo II, Capítulo III e Capítulo IV), conforme descrita a seguir:

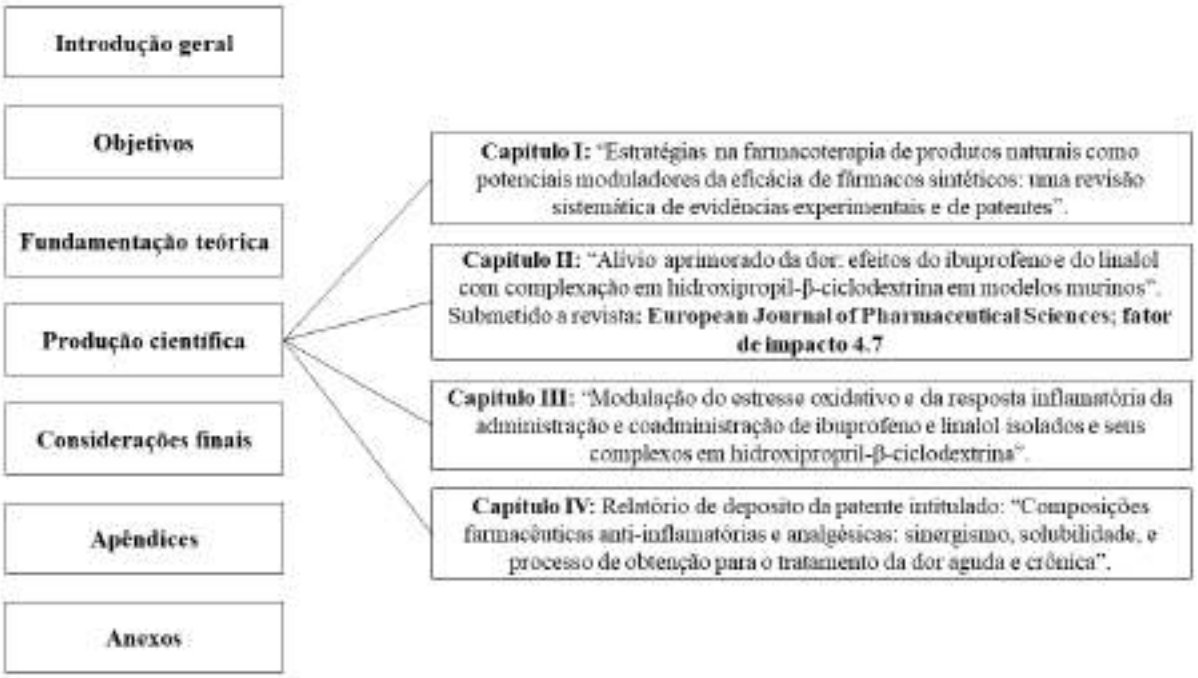
1) O Capítulo I: apresenta a versão preliminar do artigo de revisão sistemática intitulado: “Estratégias na farmacoterapia com produtos naturais como potenciais moduladores da eficácia de fármacos sintéticos: uma revisão sistemática de evidências experimentais e de patentes.”
2) O Capítulo II: apresenta a versão preliminar do primeiro artigo experimental vinculado a tese intitulado: “Alívio aprimorado da dor: efeitos do ibuprofeno e do linalol com complexação em hidroxipropil-β-ciclodextrina em modelos murinos”.
3) O Capítulo III: apresenta a versão preliminar do segundo manuscrito experimental vinculado a tese intitulado: “Modulação do estresse oxidativo e da resposta inflamatória da

administração e coadministração de ibuprofeno e linalol isolados e seus complexos em hidroxipropril-β-ciclodextrina".

4) O Capítulo IV: O pedido de deposito da patente intitulado: "Composições farmacêuticas anti-inflamatórias e analgésicas: sinergismo, solubilidade, e processo de obtenção para o tratamento da dor aguda e crônica".

Por fim, a tese é finalizada com as considerações finais (dividida em aspectos gerais da produção científica, conclusões gerais e perspectivas de investigações futuras); seguidas pelas Referências; Apêndices e anexos. A estrutura geral da tese pode ser observada no fluxograma a seguir (Figura 1).

Figura 1: Fluxograma com a organização geral da estrutura da tese.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

2.1. OBJETIVO GERAL

Comparar os efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios do (±)-linalol (LIN) e ibuprofeno (IBU), administrados isoladamente ou em associação, nas formas livres e complexadas em hidroxipropil-β-ciclodextrina, em modelos experimentais *in vivo*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar os complexos de inclusão de LIN e IBU em HP*β*CD por ultrassonicação (razões molares 1:1, 2:1 e 4:1);
- Caracterizar os complexos por métodos térmicos, difratométricos e espectroscópicos;
- Avaliar a solubilidade de LIN e IBU isolados e complexados;
- Caracterizar o perfil de liberação *in vitro* dos complexos utilizando célula de difusão do tipo Franz;
- Avaliar o efeito da administração e coadministração dos complexos, sobre o sistema nervoso central (SNC);
- Avaliar o efeito da complexação em hidroxipropil-β-ciclodextrina sobre as propriedades de solubilidade e liberação do linalol e do ibuprofeno, e sua relação com o desempenho farmacológico observado.
- Comparar os efeitos antinociceptivos do linalol e do ibuprofeno, administrados isoladamente ou em associação, nas formas livres e complexadas, em modelos experimentais de nocicepção aguda e crônica.
- Investigar se a coadministração do linalol e do ibuprofeno resulta em modulação da resposta nociceptiva superior à administração isolada dos compostos.
- Analisar os efeitos anti-inflamatórios da administração isolada e associada do linalol e do ibuprofeno, nas formas livres e complexadas, em modelos experimentais de inflamação aguda e crônica.
- Avaliar a influência da associação e da complexação sobre parâmetros inflamatórios celulares e bioquímicos, incluindo recrutamento leucocitário, atividade da mieloperoxidase e estresse oxidativo tecidual.
- Investigar a segurança farmacológica da administração isolada e associada dos compostos, por meio da avaliação de possíveis efeitos sobre o sistema nervoso central e a atividade motora.

- Correlacionar as modificações farmacotécnicas decorrentes da complexação em ciclodextrina com os efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios observados in vivo.

2.3 OBJETIVOS E QUESTIONAMENTOS

A dor é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável relacionada a dano tecidual real ou potencial, representando um importante desafio para a saúde pública diante das limitações terapêuticas, dos efeitos adversos e dependência, como opioides, do alto custo dos tratamentos disponíveis (Abbas, 2020). Nesse contexto, intensifica-se a busca de novas estratégias terapêuticas eficazes com menos efeitos colaterais decorrente de associação de substâncias ou por formulações farmacêuticas. Uma abordagem promissora é a combinação de produtos naturais com fármacos, visando potencializar os efeitos terapêuticos e reduzir a toxicidade associada ao uso isolado de cada composto.

Estudos prévios demonstraram os benefícios dessa estratégia, como a ação anti-inflamatória da combinação de citral e naproxeno (Ortiz *et al*., 2010), a modulação da nocicepção por *α*-bisabolol e diclofenaco (Ortiz *et al*., 2018) e o alívio da dor orofacial com geraniol e codeína (Nunes *et al*., 2024) a atividade antitumoral da combinação de linalol e doxorrubicina (Wi *et al*., 2020). Assim, este estudo investigou o potencial terapêutico da coadministração de linalol (LIN) com ibuprofeno (IBU). Além disso, avaliou-se o impacto da encapsulação desses compostos em hidroxipropil-*β*-ciclodextrina (HP*β*CD) sobre os efeitos antinociceptivos e melhoria da biodisponibilidade.

As ciclodextrinas (CDs) são oligosacarídeos cíclicos capazes de formar complexos de inclusão com moléculas hidrofóbicas, melhorando sua solubilidade em água, redução de perca do princípio ativo, otimização das atividades farmacológicas e biodisponibilidade (Loftsson *et al*., 1993). Dentre elas, a HPβCD tem se destacado como uma ferramenta promissora na formulação de sistemas de liberação de substâncias bioativas, aumentando sua eficácia terapêutica (Malanga *et al*., 2016). A encapsulação de terpenos, como o LIN, com CDs tem demonstrado potencial para otimizar suas propriedades farmacológicas, reduzindo a toxicidade e aumentando sua biodisponibilidade (Lima *et al*., 2016).

O LIN é um monoterpeno racêmico ((R)-(+)-linalol e (S)-(–)-linalol) presente em óleos essenciais de plantas como lavanda e manjericão, amplamente utilizado na indústria cosmética, alimentícia e aromaterapia devido às suas propriedades aromáticas e terapêuticas (Nawaz *et al*., 2023). No entanto, apresenta toxicidade significativa quando administrado em doses elevadas (Agus, 2021). O IBU, por sua vez, é um anti-inflamatório não esteroidal (AINE) clinicamente utilizado no tratamento de dor aguda e crônica, devido às suas propriedades analgésicas e anti-inflamatórias

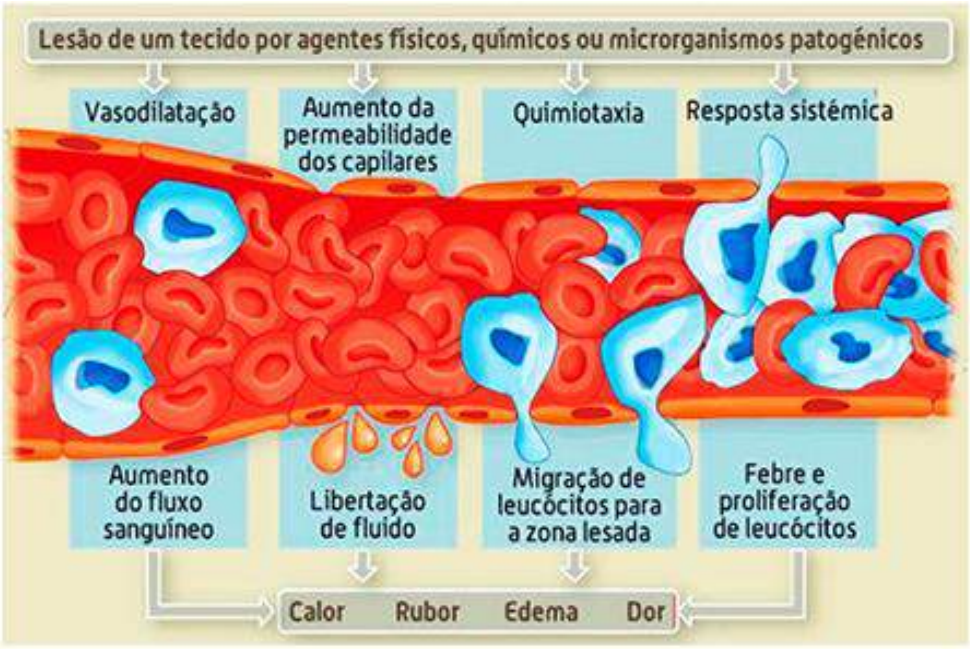
(Brugueras, 2016). Todavia, seu uso prolongado tem acarretado efeitos como irritação gastrointestinal e comprometimento renal (Cajaraville, 2021).

Assim, nossa hipótese é que a combinação de LIN e IBU pode potencializar os efeitos analgésicos/anti-inflamatórios, permitindo a redução das doses de ambos compostos e, consequentemente, reduzindo efeitos colaterais decorrente do uso. Além disso, essa estratégia pode promover um alívio mais rápido e duradouro da dor, reduzindo a frequência de doses repetidas na dor crônica. Embora existam estudos isolados sobre os efeitos de LIN e IBU, as interações entre esses compostos, assim como o impacto da HPβCD na modulação antinociceptiva e anti-inflamatória, ainda não foram suficientemente explorados. Diante disso, este estudo busca elucidar tais interações e seus potenciais efeitos terapêuticos.

3.1 Considerações sobre inflamação e estresse oxidativo

A sobrevivência dos organismos depende de mecanismos eficientes de defesa contra agentes patogênicos e da capacidade de reparar danos teciduais (Pahwa; Goyal; Jialal, 2018). Nesse contexto, a resposta inflamatória constitui um processo biológico essencial, envolvendo uma complexa rede de eventos celulares e bioquímicos, como extravasamento de fluidos, ativação enzimática, migração celular, liberação de mediadores químicos, ativação e sensibilização de receptores, lise tecidual e mecanismos de reparo. Esses eventos manifestam-se clinicamente por meio dos sinais cardinais da inflamação: calor, rubor, edema, dor e perda de função, conforme ilustrado na Figura 2 (Lima *et al*., 2007; Nathan; Ding 2010). Durante esse processo, a produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio (ROS) pode exceder a capacidade antioxidante do organismo, caracterizando o estresse oxidativo, condição que amplifica a resposta inflamatória e contribui para a persistência do dano tecidual (Chatterjee *et al*., 2016). Diante da participação direta do estresse oxidativo e da atividade neutrofílica na amplificação da inflamação e da dor, a avaliação da atividade da mieloperoxidase e dos níveis de malondialdeído constitui uma estratégia adequada para investigar, de forma integrada, os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes das intervenções propostas neste estudo.

Fig. 2: Representação esquemática das principais alterações vasculares e celulares no processo inflamatório.



Fonte: Disponível em: <http://protofolio-de-biologia.webnode.pt/news/resposta-inflamatoria/>. Acesso em: 20 de agosto de 2025.

Com relação à duração, a inflamação pode ser dividida em duas fases principais: aguda e crônica. A primeira, de curta duração, caracteriza-se por alterações vasculares, como extravasamento de macromoléculas plasmáticas que resulta em edema (exsudato), seguido pela migração de neutrófilos para o tecido lesionado (Etienne; Viegas; Viegas Jr, 2021). Esse recrutamento celular e as respostas vasculares são mediados por diversos sinais químicos, incluindo TNF-α (Fator de Necrose Tumoral alfa) e IL-1 (Interleucina-1), que promovem ativação endotelial e recrutamento de leucócitos, a PGE2 (Prostaglandina E2), que induz vasodilatação, aumento da permeabilidade e sensibilização à dor, o PAF (Fator de Ativação Plaquetária), que estimula plaquetas e leucócitos e o NO (óxido nítrico), que regula fluxo sanguíneo e respostas imunes (De Smet, 2017; Miossec, 2003). Durante essa fase, os neutrófilos também liberam mieloperoxidase (MPO), enzima que participa da produção de espécies reativas e da destruição de patógenos (Malle *et al*., 2007).

A segunda fase, ocorre quando o agente agressor não é eliminado, o que pode fazer com que a inflamação evolua para a fase crônica, de duração prolongada. Essa fase é caracterizada pelo acúmulo de células mononucleares, como linfócitos, monócitos e plasmócitos, presença persistente de exsudato, dano tecidual e consequente ativação de mecanismos de reparo, incluindo angiogênese e fibrose (Gupta; Sharma, 2004). Além disso, ocorre produção contínua de mediadores, como citocinas pró-inflamatórias (TNF-α, IL-6, IL-1β) e quimiocinas, que mantêm o recrutamento celular e a ativação imune local (Schmid-Schönbein, 2006). Macrófagos ativados liberam espécies reativas de oxigênio, contribuindo tanto para a destruição de patógenos quanto para danos aos tecidos circundantes (Miossec, 2003). A inflamação crônica também induz remodelamento tecidual, deposição de matriz extracelular e fibrose, processos que podem levar à perda da função do órgão afetado. Essa fase reflete um equilíbrio delicado entre respostas reparadoras e lesivas, sendo frequentemente associada a doenças degenerativas e inflamatórias persistentes (Fujiwara; Kobayashi, 2005).

Durante o processo inflamatório, a ativação de leucócitos, especialmente neutrófilos e macrófagos, leva à produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN), que desempenham papel essencial na eliminação de patógenos (Chatterjee, 2016). No entanto, quando essas espécies são produzidas em excesso ou quando os mecanismos antioxidantes do tecido não são suficientes, instala-se o estresse oxidativo, caracterizado pelo desequilíbrio entre agentes pró-oxidantes e defensores antioxidantes. Esse desequilíbrio resulta em danos a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, contribuindo para a amplificação da resposta inflamatória e para a perpetuação do dano tecidual (Chaudhari *et al*., 2014).

Um marcador amplamente utilizado para avaliar o estresse oxidativo é o malondialdeído (MDA)**,** produto final da peroxidação lipídica, que reflete o grau de dano oxidativo às membranas celulares (Götz *et al*., 1993; Ohkawa; Ohishi; Yagi, 1979). A elevação dos níveis de MDA tem sido

observada tanto em inflamação aguda quanto crônica, indicando que o excesso de ROS não apenas destrói estruturas celulares, mas também intensifica a produção de mediadores inflamatórios, perpetuando o ciclo de inflamação e lesão (López *et al*., 2016). Dessa forma, o estresse oxidativo constitui um ponto crucial entre a ativação celular inflamatória e o dano estrutural aos tecidos, representando um alvo importante para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

3.2 Considerações sobre dor e nocicepção

A dor é uma sensação desagradável que surge como resposta do corpo a estímulos que possam causar danos aos tecidos. Ela desempenha um papel essencial ao alertar o organismo sobre possíveis lesões ou situações de risco (Sneddon, 2018). A nocicepção, por sua vez, é o processo pelo qual o corpo detecta esses estímulos prejudiciais, como calor intenso ou lesões físicas. Embora seja uma fase essencial na percepção da dor, a presença de um estímulo nocivo nem sempre resulta na experiência dolorosa (Falk; Dickenson, 2014; Johnson, 2016).

Com relação a sua classificação, a dor pode ser classificada com base no tipo de lesão e nos mediadores envolvidos, sendo dividida em neurogênica, nociceptiva, neuropática ou psicogênica (Thienhaus; Cole, 2002). Além disso, pode ser aguda, relacionada a lesões teciduais e de curta duração, ou crônica, decorrente de doenças ou lesões persistentes que ultrapassam o tempo de recuperação, levando a incapacitação do paciente (Kumar; Elavarasi, 2016).

O mecanismo periférico da dor envolve estímulos químicos, térmicos, mecânicos e elétricos, que promovem a liberação de substâncias algiogênicas, como bradicinina, prostaglandinas e serotonina. Essas substâncias sensibilizam os receptores, contribuindo para a ativação e transmissão dos sinais dolorosos ao sistema nervoso central (Basbaum et al., 2009; Costigan; Woolf, 2000). A compreensão desses mecanismos fundamenta a escolha de modelos experimentais capazes de avaliar tanto a nocicepção aguda quanto a sensibilização periférica e central, como os testes da formalina, das contorções abdominais e da hiperalgesia mecânica induzida por CFA, empregados neste estudo.

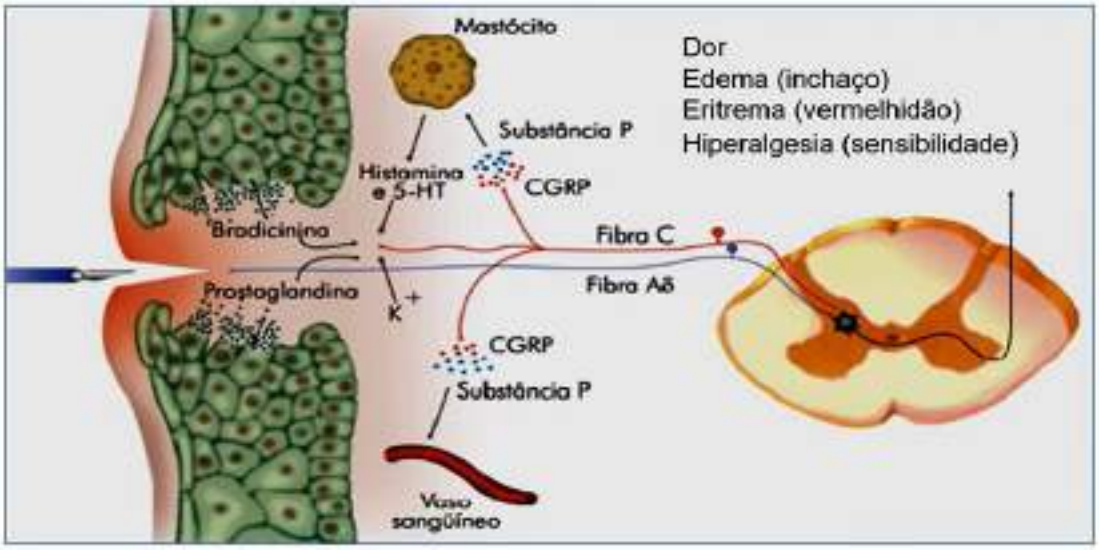
Os nociceptores são terminações nervosas responsáveis pela transdução de estímulos nocivos em impulsos nervosos, permitindo a interpretação da dor (Fornasari, 2012). Eles se dividem em mecânicos, térmicos, polimodais e silenciosos, ativados por diferentes tipos de estímulos, como pressão, temperatura extrema ou mediadores inflamatórios. Seus corpos celulares estão localizados nos gânglios da raiz dorsal ou trigeminais, de onde enviam fibras nervosas para a periferia e para o sistema nervoso central (Patel, 2010).

As fibras nociceptivas, classificadas em subtipos Aδ e C, diferem quanto ao diâmetro, mielinização e velocidade de condução. As fibras Aδ, mielinizadas e de maior diâmetro, conduzem impulsos rapidamente, produzindo uma dor aguda e bem localizada (Ringkamp *et al*., 2011). Por

outro lado, as fibras C, não mielinizadas e de menor diâmetro, conduzem impulsos lentamente, resultando em uma dor difusa e de caráter prolongado. Além disso, essas fibras podem responder a estímulos não nocivos, como variações térmicas, dependendo das condições fisiológicas (Galosi *et al*., 2021).

A figura 3 ilustra o processo pelo qual uma lesão tecidual desencadeia a liberação de mediadores químicos, ativando fibras sensoriais periféricas (C e Aδ), que transmitem os sinais nociceptivos para o sistema nervoso central, contribuindo para a percepção da dor.

Fig. 3: Representação dos mecanismos básicos da dor: lesão tecidual, liberação de mediadores químicos e transmissão do estímulo doloroso



Fonte: Disponível em: http://etnomedicina.blogspot.com/2012/
Acesso em: 02 de dezembro de 2024.

Do ponto de vista epidemiológico a dor é um problema de saúde crescente, enfrentando desafios como a falta de profissionais, recursos e políticas públicas adequadas. Historicamente, era vista como inevitável, até que o conceito fisiológico de controle da dor foi desenvolvido (Steinmetz, 2022). Avanços na pesquisa básica têm contribuído para desvendar seus mecanismos subjacentes e impulsionando pesquisas não clínicas voltadas ao aprimoramento das terapias, com foco no desenvolvimento de estratégias mais eficazes e seguras para o tratamento, visando superar as limitações das abordagens atuais (Galosi *et al*., 2021; Ringkamp *et al*., 2011).

Em modelos de experimentação animal, avalia-se a nocicepção, uma vez que os animais não podem expressar verbalmente a dor, sendo essa definição aplicável apenas a humanos (Patel, 2010). Diante de estímulos nociceptivos, os animais apresentam respostas comportamentais, motoras e fisiológicas, permitindo a análise da resposta nociceptiva. Embora o limiar de dor seja semelhante

entre diferentes espécies para estímulos mecânicos, térmicos ou químicos, as manifestações comportamentais variam entre elas (Kaliyaperumal *et al*., 2020).

Nesse contexto, a utilização de modelos animais tem sido fundamental para investigar novas abordagens terapêuticas voltadas para o controle da dor. A busca por alternativas terapêuticas tem impulsionado o estudo de compostos naturais com propriedades analgésicas. Entre esses compostos, destacam-se os terpenos, amplamente encontrados em óleos essenciais de plantas aromáticas, que têm demonstrado potencial em estudos não clínicos.

3.3 Os terpenos e o Linalol

Os terpenos são metabólitos secundários amplamente distribuídos na natureza, sendo produzidos principalmente por plantas, fungos e alguns organismos marinhos (Thakur; Wang; Michniak, 2005). Eles são derivados da via do isopreno e apresentam estruturas químicas variadas, podendo ser classificados em monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, entre outros (Koyama; Heinbockel, 2020; Ninkuu *et al*., 2021). Além de desempenharem funções ecológicas importantes, como defesa contra predadores e atração de polinizadores, eles são responsáveis pelos aromas e sabores característicos de muitas espécies vegetais, incluindo os óleos essenciais (Perveen, 2018).

Do ponto de vista farmacológico, os terpenos têm despertado grande interesse devido às suas diversas propriedades bioativas. Estudos têm demonstrado que esses compostos são responsáveis por diversas atividades biológicas, como atividade anti-inflamatória (Ramos *et al*., 2020), antinociceptiva (Da Costa *et al*., 2022), antimicrobiana (Da Silva *et al*., 2024), antioxidante (Bar; Kara, 2024) e no tratamento da dor neuropática (Bilbrey *et al*., 2022), sendo considerados promissores para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos.

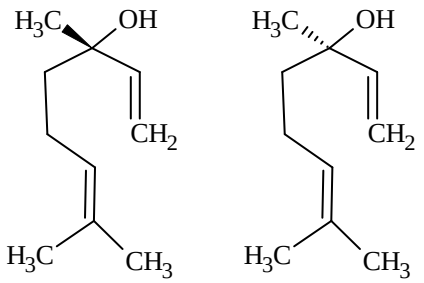
Dentre os diversos terpenos, destaca-se o linalol, um composto extraído de diversas plantas da flora brasileira, com destaque para as regiões Norte e Nordeste. Entre as espécies que o contêm, evidenciam-se o pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke), a tangerina (*Citrus reticulata* Blanco), a bergamota (*Citrus bergamia* Risso), o jasmim (*Jasminum auriculatum* Vahl.) e a lavanda (*Lavandula dentata* L.). Além disso, o manjericão (*Ocimum gratissimum* L.) e o coentro (*Coriandrum sativum* L.), amplamente utilizados na culinária brasileira, também são fontes de linalol (An *et al*., 2021; Camargo; De Vasconcelos, 2015).

Quimicamente, o linalol é caracterizado com (±)-3,7-dimeti-l-1,6-octadien-3-*ol* (Fig. 4), sendo um monoterpeno alcoólico terciário acíclico de peso molecular de 154,25 g/mol, densidade de 0,862 g/mL, e fórmula ($C_{10}H_{18}O$) (Martins *et al*., 2017). Apresenta seu ponto de ebulição a 199 ºC e solubilidade em água, na proporção de 1,589 g/L. Além disso, o estado físico do composto, especialmente sua forma cristalina ou amorfa, interfere diretamente na absorção, uma vez que essas

formas influenciam propriedades físico-químicas determinantes para sua aplicação farmacológica (Pereira *et al*., 2018). Apesar de seu potencial farmacológico, a aplicação terapêutica do linalol é limitada por sua baixa solubilidade aquosa e volatilidade, o que justifica a investigação de estratégias farmacotécnicas, como a complexação em ciclodextrinas, para otimizar seu desempenho biológico.

Além de suas características físico-químicas, destaca-se que a molécula apresenta um centro quiral, existindo sob duas formas enantioméricas: (R)-linalol e (S)-linalol, que diferem na orientação espacial em torno do carbono assimétrico e podem interagir de maneira distinta com alvos biológicos (Peana *et al*., 2003; Pereira *et al*., 2018). A distinção entre estes enantiômeros é relevante porque cada forma pode interagir de maneira diferente com alvos biológicos, influenciando parâmetros como potência, seletividade e mecanismo de ação; além disso, a mistura racêmica pode contribuir para efeitos farmacológicos mais amplos ou sinérgicos, ao combinar perfis de atividade complementares que potencialmente favorecem a resposta terapêutica dos efeitos antinociceptivo, anti-inflamatório e ansiolítico. No presente estudo, foi empregada a mistura racêmica do composto, contendo proporções equimolares dos dois enantiômeros, de modo a avaliar o efeito farmacológico resultante da ação combinada dessas formas ópticas.

Fig. 4: Fórmulas estruturais dos enantiômeros do (±) linalol ($C_{10}H_{18}O$): (R)-(+)-linalol e (S)-(–)-linalol



Fonte: Própria autora (2025), por meio da utilização do software MarvinSketch®.

O linalol é um terpeno investigado por seu amplo espectro de atividades biológicas e propriedades terapêuticas (An *et al*., 2021). Entre essas propriedades, destacam-se suas ações antifúngica (Biernasiuk; Malm, 2023), antioxidante (Duarte *et al*., 2016), anti-inflamatória *(*Huo *et al*., 2013) (Peana AT, D'Aquila PS, Panin F, Serra G, Pippia P, Moretti MD. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. Phytomedicine. 2002 Dec;9(8):721-6.),, antinociceptiva (Quintans-Júnior *et al*., 2013) (Peana AT, D'Aquila PS, Chessa ML, Moretti MD, Serra G, Pippia P. (-)-Linalool produces antinociception in two experimental

models of pain. Eur J Pharmacol. 2003 Jan 26;460(1):37-41), antimicrobiana (Guo *et al*., 2021), e anticancerígena (Elbe *et al*., 2022).

Os mecanismos moleculares subjacentes aos seus efeitos terapêuticos incluem, a modulação da via do óxido nítrico, que desempenha um papel fundamental na ação antinociceptiva do linalol (Peana *et al*., 2006). Em modelos experimentais de dor neuropática causados pela ligadura do nervo periférico, a administração de linalol por sete dias consecutivos promoveu uma redução temporária da hiperalgesia mecânica (Peana *et al*., 2004). Além disso, o linalol demonstrou capacidade de inibir a resposta de mordedura induzida pelas citocinas pró-inflamatórias IL-1β e TNF-α, evidenciando sua atuação no controle da dor inflamatória (Batista *et al*., 2010). Ademais, estudos experimentais demonstraram que o linalol pode regular mediadores inflamatórios derivados da via dos eicosanoides. Em culturas celulares de microglia estimuladas com LPS, o linalol reduziu significativamente a produção de prostaglandina E_2 (PGE_2), um mediador chave na inflamação e na dor, além de diminuir a expressão de citocinas pró-inflamatórias e óxido nítrico (Li *et al*., 2015).

A associação do linalol com CDs para o manejo da dor e da inflamação tem sido amplamente descrita na literatura, demonstrando melhora da eficácia farmacológica (Camargo; De Vasconcelos, 2015; Quintans-Júnior *et al*., 2013). Essa estratégia tem permitido a redução das doses nominais de LIN necessárias para alcançar efeito terapêutico, em decorrência do aumento da biodisponibilidade, além de favorecer ações farmacológicas mais sustentadas ao longo do tempo (Camargo *et al*., 2025; Nascimento *et al*., 2014).

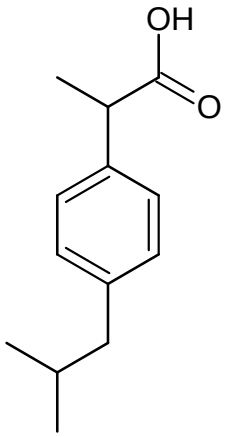
Esses achados reforçam o potencial terapêutico do LIN no manejo da dor e que que sua associação com CDs pode ser benéfica no aspecto farmacológico, contudo, destaca-se a necessidade de estudos adicionais para elucidar suas interações farmacológicas e seu possível efeito sinérgico com outros fármacos analgésicos. A ampliação do conhecimento sobre seus mecanismos de ação poderá contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas mais eficazes e seguras pensando no uso translacional em estudos clínicos e em outras aplicações terapêuticas.

3.4 O ibuprofeno

O ibuprofeno, quimicamente denominado ácido 2-(4-isobutilfenil)-propiônico, é um sólido cristalino incolor, pertencente à classe dos ácidos arilpropiônicos, apresentando massa molar de 206,28 g/mol e pKa em torno de 4,4, característica que influencia diretamente sua ionização em pH fisiológico (O'Neil, 2013). Trata-se de um composto fracamente ácido e lipofílico, com baixa solubilidade em água, porém solúvel em solventes orgânicos e em soluções aquosas de hidróxidos alcalinos e carbonatos (Nichol; Allen, 2015). Estruturalmente, sua conformação química (Fig. 5) está

diretamente relacionada à inibição das ciclooxigenases, conferindo-lhe potente atividade anti-inflamatória e analgésica, amplamente explorada na prática clínica (Cajaraville, 2021).

Fig. 5: Estrutura química do ibuprofeno ($C_{13}H_{18}O_2$)



Fonte: Própria autora (2025), por meio da utilização do software MarvinSketch®.

Classificado como um anti-inflamatório não esteroidal (AINE), o ibuprofeno utilizado no alívio de dores musculares, articulares, cefaleia, febre e condições como a artrite (Rainsford, 2009). Seu mecanismo de ação baseia-se na inibição da síntese de prostaglandinas, mediadores químicos essenciais no processo inflamatório. Essa inibição equilibrada de forma reversível e não seletiva das isoenzimas COX-1 e COX-2, responsáveis pela conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas, moléculas envolvidas na regulação de processos inflamatórios no organismo (Albert; Gernaat, 1984).

A COX-1 é expressa constitutivamente em vários tecidos e participa da manutenção de funções fisiológicas importantes, como a proteção da mucosa gástrica, a regulação do fluxo sanguíneo renal e a agregação plaquetária. Já a COX-2 é induzida principalmente em resposta a estímulos inflamatórios e está associada à produção de prostaglandinas que mediam dor, febre e inflamação (Rainsford, 2009). O ibuprofeno, ao inibir ambas as isoenzimas, reduz a inflamação e o desconforto, mas a inibição da COX-1 também compromete a proteção gástrica, aumentando o risco de irritação, úlceras e disfunções renais durante o uso prolongado ou em doses elevadas (Jan-Roblero; Cruz-Maya, 2023).

A administração oral do ibuprofeno enfrenta desafios devido à sua baixa solubilidade em água, o que pode comprometer sua biodisponibilidade e limitar a eficácia terapêutica em formulações convencionais (Pereva *et al*., 2016). Estratégias como o desenvolvimento de novas formulações visam otimizar sua absorção e desempenho clínico (Kitak *et al*., 2015). Apesar de suas limitações farmacocinéticas, o ibuprofeno se destaca por seu perfil de segurança e ampla aplicabilidade clínica, sendo geralmente bem tolerado em doses terapêuticas (Tanner *et al*., 2010). Entretanto, o uso

prolongado ou em doses elevadas pode estar associado a eventos adversos, como irritação gástrica, úlceras e disfunções renais (Jan-Roblero; Cruz-Maya, 2023). Nesse contexto, estratégias que permitam a redução da dose eficaz de ibuprofeno, sem prejuízo da resposta analgésica e anti-inflamatória, são particularmente relevantes, destacando-se a associação com compostos naturais bioativos como uma alternativa racional e farmacologicamente fundamentada.

Diante desses riscos, diversas estratégias terapêuticas têm sido propostas com o objetivo de aumentar a segurança do ibuprofeno. Entre elas destacam-se a utilização da menor dose eficaz pelo menor tempo possível, a associação com protetores gástricos quando necessário, o desenvolvimento de formulações que aumentem a solubilidade e a biodisponibilidade, bem como a combinação com outros fármacos ou compostos naturais capazes de potencializar a eficácia analgésica ou anti-inflamatória, permitindo a redução da dose de ibuprofeno sem comprometer a resposta clínica (Kitak *et al*., 2015; Pereva *et al*., 2016).

3.5 As Ciclodextrinas

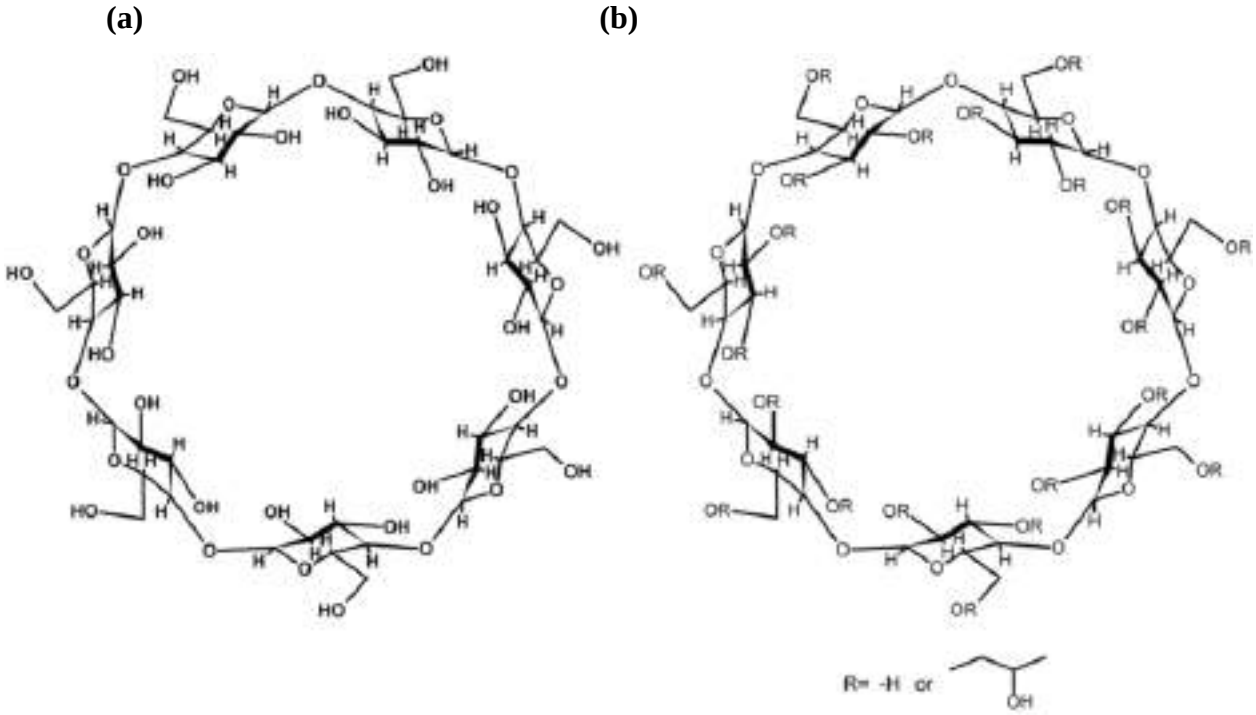
As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos resultantes da degradação enzimática do amido, compostos por unidades de glicose conectadas por ligações α-1,4. Suas propriedades químicas únicas derivam da estrutura em forma anelar, caracterizada por uma cavidade interna hidrofóbica e uma superfície externa hidrofílica (Bender; Komiyama, 2012; Davis; Brewster, 2004). Essa configuração permite a formação de complexos de inclusão com compostos hidrofóbicos, protegendo-os de degradação e melhorando características como solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade. Devido a essas propriedades, as CDs são aplicadas na indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética (Liu *et al*., 2021; Narayanan *et al*., 2022).

As CDs naturais são classificadas conforme número de unidades de glicose em sua estrutura: α-ciclodextrina (seis unidades), β-ciclodextrina (sete unidades) e γ-ciclodextrina (oito unidades) (Yousaf *et al*., 2022). Entre essas, a β-ciclodextrina é a mais utilizada, pois apresenta um equilíbrio favorável entre o tamanho da cavidade e o custo de produção (Saltão; Veiga, 2001). Entretanto, sua solubilidade limitada em água pode restringir sua aplicação direta (Abarca *et al*., 2016). Para superar essa limitação, foram desenvolvidos derivados químicos, como a hidroxi-propil-β-ciclodextrina (HPβCD), cuja solubilidade é significativamente maior do que a β-ciclodextrina (Liu *et al*., 2022) (Fig. 6).

A HPβCD é um derivado utilizado devido à sua capacidade de formação de complexos de inclusão e seu menor potencial tóxico (Yousaf *et al*., 2022). Sua modificação química, caracterizada pela introdução de grupos hidroxi-propila na estrutura da β-ciclodextrina, aumenta sua solubilidade em meio aquoso (Yang *et al*., 2022). Além disso, a HPβCD possui um perfil de segurança bem

estabelecido e é utilizada em formulações farmacêuticas aprovadas para uso humano, facilitando a encapsulação de fármacos e compostos bioativos para otimizar sua eficácia terapêutica (Li *et al*., 2022).

Fig. 6: (a) Estrutura da *β*-ciclodextrina (b) hidroxi-propil-*β*-ciclodextrina



Fonte: HIPÓLITO-NÁJERA *et al*., 2019

A escolha da HPβCD neste estudo fundamenta-se não apenas em sua elevada solubilidade e perfil de segurança, mas também em sua aplicabilidade translacional, uma vez que diversos fármacos analgésicos já se encontram disponíveis comercialmente em formulações complexadas com ciclodextrina. Diversos fármacos hidrofóbicos têm se beneficiado da complexação com HP*β*CD, incluindo anti-inflamatórios como o ibuprofeno, analgésicos como a morfina e agentes anticâncer como a doxorrubicina, mostrando melhorias significativas em parâmetros químicos (Loftsson *et al*., 1993). Comercialmente, muitos fármacos utilizados no tratamento da dor são disponibilizados à sociedade em formulações complexadas com ciclodextrinas, como diclofenaco, piroxicam, indometacina, naproxeno, meloxicam e aceclofenac, apresentando maior solubilidade, biodisponibilidade e perfil de segurança aprimorado (Miranda *et al*., 2021).

De forma semelhante, compostos naturais hidrofóbicos, especialmente terpenos, também têm sido investigados em complexos com HP*β*CD. Um exemplo experimental é o limoneno, cujo complexo com HP*β*CD apresentou efeitos biológicos positivos em modelos animais, incluindo melhora na atividade anti-inflamatória ou antinociceptiva em estudos *in vivo*, evidenciando a

viabilidade farmacológica dessa abordagem (Pereira, 2021). No caso específico do linalol, embora sua complexação com *β*-ciclodextrina tenha demonstrado benefícios em parâmetros de solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade (Quintans-Júnior *et al*., 2013), até onde se buscou na literatura não há relatos publicados de estudos *in vivo* avaliando o linalol complexado em HP*β*CD**.**

As CDs possuem a capacidade de proteger as moléculas hóspedes da degradação causada por fatores externos, reduzir a volatilidade e conferir estabilidade química e física (Saltão; Veiga, 2001). Além disso, podem potencializar a atividade terapêutica dos compostos encapsulados, minimizando efeitos colaterais e reações adversas (Aguiar, 2001). Outro benefício relevante é a possibilidade de modular a frequência de administração dos fármacos, promovendo um sistema de liberação controlada. Esse sistema de liberação controlada melhora a eficácia terapêutica e a adesão ao tratamento (Păduraru *et al*., 2022).

A aplicação de CDs na complexação de terpenos, com vistas à sua utilização nos setores alimentício, cosmético e farmacêutico, tem sido amplamente descrita na literatura científica, incluindo o crescente número de estudos e depósitos em bases de patentes, evidenciando o interesse tecnológico e industrial nessa abordagem (Braz *et al*., 2020; Guimarães *et al*., 2014). A elevada compatibilidade química dos terpenos, especialmente dos monoterpenos alcoólicos, com a cavidade hidrofóbica das CDs favorece a formação de complexos de inclusão com elevados rendimentos, geralmente superiores a 80–90%, com poucas exceções estruturais (Carneiro *et al*., 2019; Lima *et al*., 2016b; Pinho *et al*., 2014). Essa complexação promove aumento expressivo da solubilidade aquosa e da biodisponibilidade dos princípios ativos, permitindo a obtenção de efeitos terapêuticos com doses mais baixas em comparação às formas livres. Como consequência, observa-se redução do potencial tóxico e melhora da eficácia farmacológica (Carneiro *et al*., 2019; Costa *et al*., 2019).

Diante das propriedades das CDs descritas, evidencia-se seu potencial como ferramentas versáteis para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas mais eficazes e seguras. Sua capacidade de otimizar as características dos compostos ativos, aliada à redução de efeitos adversos, reforça sua importância no avanço de terapias inovadoras e alternativas.

3.6 Mecanismos e implicações terapêuticas na combinação de produtos naturais com fármacos

A terapia combinada com fármacos é consolidada como uma estratégia essencial no tratamento de diversas condições clínicas, com o objetivo de potencializar os efeitos terapêuticos (Obodozie, 2012). Os mesmos mecanismos que fundamentam as interações entre fármacos convencionais também se aplicam à combinação de produtos naturais com medicamentos, resultando em interações farmacocinéticas e farmacodinâmicas que podem ser tanto benéficas quanto prejudiciais (Foucquier; Guedj, 2015).

Nas interações farmacocinéticas, o produto natural pode modificar a absorção, distribuição, metabolismo, ligação proteica ou excreção de um medicamento, alterando os níveis do fármaco ou seus metabólitos. Já as interações farmacodinâmicas ocorrem quando uma substância derivada de plantas exerce atividade antagonista, aditiva ou sinérgica em relação ao medicamento convencional (Obodozie, 2012). Para avaliar quantitativamente esses efeitos farmacodinâmicos em combinações de fármacos, é frequentemente utilizado o isobolograma, uma ferramenta gráfica que permite determinar se a interação resulta em efeito aditivo, sinérgico ou antagonista, oferecendo uma visão clara da magnitude da interação entre as substâncias (Duarte; Vale, 2022).

O antagonismo ocorre quando os efeitos de dois compostos são menores do que a soma de seus efeitos individuais (Pezzani *et al*., 2019). Nas interações aditivas, os efeitos dos dois compostos equivalem à soma dos efeitos de cada um (Ialongo *et al*., 2023). A potencialização refere-se ao aumento da atividade de um fármaco ou composto natural por meio de mecanismos que melhoram sua biodisponibilidade, estabilidade ou interação com alvos moleculares (Zhou *et al*., 2019). Já o sinergismo ocorre quando a combinação de dois compostos resulta em um efeito terapêutico superior à soma de seus efeitos individuais, ampliando a eficácia do tratamento (Tang; Wennerberg; Aittokallio, 2015).

As implicações terapêuticas do sinergismo são amplas e impactam diretamente a prática clínica. A combinação de produtos naturais com fármacos tem se mostrado uma estratégia promissora, visto que compostos bioativos presentes em plantas medicinais podem potencializar a eficácia terapêutica dos medicamentos convencionais (Ialongo *et al*., 2023). Essa abordagem não apenas expande as opções terapêuticas, mas também promove uma utilização mais racional de substâncias químicas, reduzindo a toxicidade e melhorando a segurança dos tratamentos (Dzobo, 2022).

Pesquisas demonstram que, no manejo da dor, a combinação de opioides, como a codeína, com terpenos, como o geraniol, permite um controle eficaz da dor utilizando doses reduzidas de opioides e minimizando os efeitos adversos (Nunes *et al*., 2024). Além disso, interações entre diclofenaco e α-bisabolol também evidenciaram um efeito sinérgico, indicando que essas combinações podem reduzir os danos gástricos e oferece uma alternativa terapêutica mais segura para o tratamento de inflamações e dor inflamatória (Ortiz *et al*., 2018).

Como citado, diversos estudos têm explorado a combinação de substâncias para avaliar seus efeitos anti-inflamatórios e analgésicos, ressaltando a importância dessa abordagem na otimização dos tratamentos terapêuticos. No entanto, a literatura ainda apresenta lacunas em relação à combinação do monoterpeno linalol com o anti-inflamatório ibuprofeno, tornando relevante a investigação sobre os efeitos isolados e complexados dessas substâncias. Ademais, a associação de produtos naturais e fármacos encapsulados em ciclodextrinas também carece de estudos,

especialmente no que se refere ao linalol. Assim, a hipótese central deste estudo é que a associação entre linalol e ibuprofeno, especialmente quando complexados em HPβCD, resulte em efeito antinociceptivo e anti-inflamatório superior ao uso isolado de cada composto, permitindo a redução das doses eficazes e a mitigação de efeitos adversos.

REFERÊNCIAS

ABARCA, R. L. et al. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing an essential oil component. **Food chemistry**, v. 196, p. 968–975, 2016.

ABBAS, M. A. Modulation of TRPV1 channel function by natural products in the treatment of pain. **Chemico-biological interactions**, v. 330, p. 109178, 2020.

AGUIAR, C. L. Ciclodextrina glicosiltransferase, produção, ação e aplicação. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 19, n. 1, 2001.

AGUS, H. H. Terpene toxicity and oxidative stress. In: **Toxicology**. [s.l.] Elsevier, 2021. p. 33–42.

ALBERT, K. S.; GERNAAT, C. M. Pharmacokinetics of ibuprofen. **The American journal of medicine**, v. 77, n. 1, p. 40–46, 1984.

AN, Q. et al. Recent updates on bioactive properties of linalool. **Food & function**, v. 12, n. 21, p. 10370–10389, 2021.

ARAÚJO-FILHO, H. G. et al. D-limonene exhibits superior antihyperalgesic effects in a β-cyclodextrin-complexed form in chronic musculoskeletal pain reducing Fos protein expression on spinal cord in mice. **Neuroscience**, v. 358, p. 158–169, 2017.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: A review. **Animal Behaviour**, v. 21, n. 2, p. 205–235, 1973.

BAR, S.; KARA, M. Linalool exerts antioxidant activity in a rat model of diabetes by increasing catalase activity without antihyperglycemic effect. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 28, n. 3, p. 359, 2024.

BASBAUM, A. I. et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267–284, 2009.

BATISTA, P. A. et al. The antinociceptive effect of (-)-linalool in models of chronic inflammatory and neuropathic hypersensitivity in mice. **The Journal of Pain**, v. 11, n. 11, p. 1222–1229, 2010.

BENDER, M. L.; KOMIYAMA, M. **Cyclodextrin chemistry**. [s.l.] Springer Science & Business Media, 2012. v. 6

BIERNASIUK, A.; MALM, A. Synergistic interactions between linalool and some antimycotic agents against Candida spp. as a basis for developing new antifungal preparations. **Applied Sciences**, v. 13, n. 9, p. 5686, 2023.

BILBREY, J. A. et al. Evaluation of the terpenes β-caryophyllene, α-terpineol, and γ-terpinene in the mouse chronic constriction injury model of neuropathic pain: Possible cannabinoid receptor involvement. **Psychopharmacology**, v. 239, n. 5, p. 1475–1486, 2022.

BRADLEY, P. P. et al. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **Journal of investigative dermatology**, v. 78, n. 3, p. 206–209, 1982.

BRUGUERAS, M. C. Ibuprofeno. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 50, n. 1, 2016.

CAJARAVILLE, J. P. Ibuprofen arginate for rapid-onset pain relief in daily practice: A review of its use in different pain conditions. **Journal of Pain Research**, p. 117–126, 2021.

CAMARGO, S. et al. Complexed Linalool with Beta-Cyclodextrin Improve Antihypertensive Activity: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Insights. **Pharmaceuticals**, v. 19, n. 1, p. 37, 2025.

CAMARGO, S. B.; DE VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpeno. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 3, p. 381, 2015.

CARNEIRO, S. B. et al. Cyclodextrin–drug inclusion complexes: In vivo and in vitro approaches. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 3, p. 642, 2019.

CHATTERJEE, S. et al. In vitro inhibition of cholera toxin production in vibrio cholerae by methanol extract of sweet fennel seeds and its components. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, p. JJID--2015, 2016.

CHATTERJEE, S. Oxidative stress, inflammation, and disease. In: **Oxidative stress and biomaterials**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 35–58.

CHAUDHARI, N. et al. A molecular web: endoplasmic reticulum stress, inflammation, and oxidative stress. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 8, p. 213, 2014.

COSTA, M. D. S. et al. Comparative analysis of the antibacterial and drug-modulatory effect of d-limonene alone and complexed with β-cyclodextrin. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 128, p. 158–161, 2019.

COSTIGAN, M.; WOOLF, C. J. Pain: molecular mechanisms. **The Journal of Pain**, v. 1, n. 3, p.

35–44, 2000.

CRAIG, D. Q. M.; READING, M. **Thermal analysis of pharmaceuticals**. [s.l.] CRC press, 2006.

DA COSTA, R. H. S. et al. Mechanisms of actions involved in the antinociceptive effect of estragole and its β-cyclodextrin inclusion complex in animal models. **Plants**, v. 11, n. 21, p. 2854, 2022.

DA SILVA, L. Y. S. et al. Evaluation of the inhibitory effect of isopulegol (ISO) and its β-cyclodextrin inclusion complex (ISO/β-CD) on the reversal of Staphylococcus aureus efflux pump activity. **Polymer Bulletin**, p. 1–14, 2024.

DAVIS, M. E.; BREWSTER, M. E. Cyclodextrin-based pharmaceutics: past, present and future. **Nature reviews Drug discovery**, v. 3, n. 12, p. 1023–1035, 2004.

DE SMET, M. D. Insights into the physiopathology of inflammatory macular edema. **Dev Ophthalmol**, v. 58, p. 168–177, 2017.

DE VASCONCELOS CERQUEIRA BRAZ, J.; CARVALHO NASCIMENTO JUÚNIOR, J. A.; SERAFINI, M. R. Terpenes with antitumor activity: A patent review. **Recent patents on anti-cancer drug discovery**, v. 15, n. 4, p. 321–328, 2020.

DUARTE, A. et al. Antioxidant properties of coriander essential oil and linalool and their potential to control Campylobacter spp. **Food Control**, v. 61, p. 115–122, 2016.

DUARTE, D.; VALE, N. Evaluation of synergism in drug combinations and reference models for future orientations in oncology. **Current research in pharmacology and drug discovery**, v. 3, p. 100110, 2022.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmaceutical Association. American Pharmaceutical Association**, v. 46, n. 3, p. 208–209, 1957.

DUTTA, A. Fourier transform infrared spectroscopy. **Spectroscopic methods for nanomaterials characterization**, p. 73–93, 2017.

DZOBO, K. The role of natural products as sources of therapeutic agents for innovative drug discovery. **Comprehensive pharmacology**, p. 408, 2022.

ELBE, H. et al. Anticancer activity of linalool: Comparative investigation of ultrastructural changes and apoptosis in breast cancer cells. **Ultrastructural Pathology**, v. 46, n. 4, p. 348–358, 2022.

ETIENNE, R.; VIEGAS, F. P. D.; VIEGAS JR, C. Aspectos fisiopatológicos da inflamação eo planejamento de fármacos: uma visão geral atualizada. **Rev. Virtual Quim**, v. 13, n. 1, p. 167–191, 2021.

FALK, S.; DICKENSON, A. H. Pain and nociception: mechanisms of cancer-induced bone pain. **Journal of clinical oncology**, v. 32, n. 16, p. 1647–1654, 2014.

FISCHER, M. et al. The interphase of the formalin test. **PAIN®**, v. 155, n. 3, p. 511–521, 2014.

FORNASARI, D. Pain mechanisms in patients with chronic pain. **Clinical drug investigation**, v. 32, p. 45–52, 2012.

FOUCQUIER, J.; GUEDJ, M. Analysis of drug combinations: current methodological landscape. **Pharmacology research & perspectives**, v. 3, n. 3, p. e00149, 2015.

FUJIWARA, N.; KOBAYASHI, K. Macrophages in inflammation. **Current Drug Targets-Inflammation & Allergy**, v. 4, n. 3, p. 281–286, 2005.

GALOSI, E. et al. Differential involvement of myelinated and unmyelinated nerve fibers in painful diabetic polyneuropathy. **Muscle & nerve**, v. 63, n. 1, p. 68–74, 2021.

GÖTZ, M. E. et al. The thiobarbituric acid assay reflects susceptibility to oxygen induced lipid peroxidation in vitro rather than levels of lipid hydroperoxides in vivo: a methodological approach. **Neurochemistry international**, v. 22, n. 3, p. 255–262, 1993.

GUIMARÃES, A. G.; SERAFINI, M. R.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Terpenes and derivatives as a new perspective for pain treatment: a patent review. **Expert opinion on therapeutic patents**, v. 24, n. 3, p. 243–265, 2014.

GUO, F. et al. Antimicrobial activity and proposed action mechanism of linalool against Pseudomonas fluorescens. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 562094, 2021.

GUPTA, A.; SHARMA, A. C. Despite minimal hemodynamic alterations endotoxemia modulates NOS and p38-MAPK phosphorylation via metalloendopeptidases. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 265, n. 1, p. 47–56, 2004.

HIPÓLITO-NÁJERA, A. R. et al. Interaction of indomethacin–cyclodextrins in water by UV–Vis and ITC. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 95, n. 1, p. 55–62, 2019.

HUO, M. et al. Anti-inflammatory effects of linalool in RAW 264.7 macrophages and lipopolysaccharide-induced lung injury model. **Journal of Surgical Research**, v. 180, n. 1, p. e47–e54, 2013.

IALONGO, D. et al. Synergistic effects of caffeine in combination with conventional drugs: perspectives of a drug that never ages. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 5, p. 730, 2023.

JAN-ROBLERO, J.; CRUZ-MAYA, J. A. Ibuprofen: toxicology and biodegradation of an emerging contaminant. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 2097, 2023.

JARHO, P.; URTTI, A.; JÄRVINEN, T. Hydroxypropyl-β-cyclodextrin increases the aqueous solubility and stability of pilocarpine prodrugs. **Pharmaceutical research**, v. 12, n. 9, p. 1371–1375, 1995.

JOHNSON, C. Research tools for the measurement of pain and nociception. **Animals**, v. 6, n. 11, p. 71, 2016.

KALIYAPERUMAL, S. et al. Animal models of peripheral pain: biology review and application for drug discovery. **Toxicologic pathology**, v. 48, n. 1, p. 202–219, 2020.

KITAK, T. et al. Determination of solubility parameters of ibuprofen and ibuprofen lysinate. **Molecules**, v. 20, n. 12, p. 21549–21568, 2015.

KOSTER, R.; ANDERSON, W. R.; DE BEER, E. J. **ACETIC ACID FOR ANALGESIC SCREENING**. 1959. Disponível em: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:208638322>

KOYAMA, S.; HEINBOCKEL, T. The effects of essential oils and terpenes in relation to their routes of intake and application. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 5, p. 1558, 2020.

KUMAR, K. H.; ELAVARASI, P. Definition of pain and classification of pain disorders. **Journal of Advanced Clinical and Research Insights**, v. 3, n. 3, p. 87–90, 2016.

LANGEVIN, H. M. Addressing gaps in pain research from an integrated whole person perspective. **Pain**, v. 165, n. 11S, p. S23–S32, 2024.

LI, Y. et al. Linalool Inhibits LPS-Induced Inflammation in BV2 Microglia Cells by Activating Nrf2. **Neurochemical research**, v. 40, n. 7, p. 1520–1525, jul. 2015.

LI, Z. et al. New insights into the thermal degradation behavior of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin inclusion complexes containing carvacrol essential oil via thermogravimetric analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 147, n. 20, p. 11301–11312, 2022.

LIMA, P. S. S. et al. Inclusion of terpenes in cyclodextrins: Preparation, characterization and pharmacological approaches. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 965–987, 2016a.

LIMA, R. R. et al. Inflamação em doenças neurodegenerativas. **Revista Paraense de Medicina**, v. 21, n. 2, p. 29–34, 2007.

LIMA, V. N. et al. Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. **Microbial Pathogenesis**, v. 99, p. 56–61, 2016b.

LIU, H. et al. Stability, Antioxidant Activity and Intestinal Permeation of Oleuropein Inclusion Complexes with Beta-Cyclodextrin and Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin. **Molecules**, v. 27, n. 16, p. 5077, 2022.

LIU, Z. et al. Cyclodextrin polymers: Structure, synthesis, and use as drug carriers. **Progress in Polymer Science**, v. 118, p. 101408, 2021.

LOFTSSON, T. et al. Cyclodextrin complexation of NSAIDSs: physicochemical characteristics. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 1, n. 2, p. 95–101, 1993.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. E. Cyclodextrins as functional excipients: methods to enhance complexation efficiency. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 101, n. 9, p. 3019–3032, 2012.

LÓPEZ-LÓPEZ, A. L. et al. Chronic unpredictable mild stress generates oxidative stress and systemic inflammation in rats. **Physiology & behavior**, v. 161, p. 15–23, 2016.

MADER, W. J.; HIGUCHI, T. Phase solubility analysis. 1970.

MALANGA, M. et al. "Back to the future": a new look at hydroxypropyl beta-cyclodextrins. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 105, n. 9, p. 2921–2931, 2016.

MALLE, E. et al. Myeloperoxidase: A target for new drug development? **British Journal of Pharmacology**, v. 152, n. 6, p. 838–854, 2007.

MARTINOV, T. et al. Measuring changes in tactile sensitivity in the hind paw of mice using an electronic von Frey apparatus. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 82, p. e51212, 2013.

MARTINS, M. A. R. et al. Terpenes solubility in water and their environmental distribution. **Journal of Molecular Liquids**, v. 241, p. 996–1002, 2017.

MIOSSEC, P. Physiopathology of inflammation. **La revue du praticien**, v. 53, n. 5, p. 482–488, 2003.

MIRANDA, G. M. et al. Inclusion complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs with cyclodextrins: A systematic review. **Biomolecules**, v. 11, n. 3, p. 361, 2021.

NARAYANAN, G. et al. Cyclodextrin-based nanostructures. **Progress in Materials Science**, v. 124, p. 100869, 2022.

NASCIMENTO, S. S. et al. Linalool and linalool complexed in β-cyclodextrin produce anti-hyperalgesic activity and increase Fos protein expression in animal model for fibromyalgia. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 387, n. 10, p. 935–942, 2014.

NATHAN, C.; DING, A. Nonresolving inflammation. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 871–882, 2010.

NAWAZ, S. et al. Linalool: Monoterpene alcohol effectiveness in chronic synovitis through lowering Interleukin-17, spleen and thymus indices. **International Immunopharmacology**, v. 121, p. 110517, 2023.

NICHOL, K. J.; ALLEN, D. W. The medicinal chemistry of ibuprofen. **Ibuprofen: Discovery,**

Development and Therapeutics, p. 22–50, 2015.

NINKUU, V. et al. Biochemistry of terpenes and recent advances in plant protection. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 5710, 2021.

NUNES, A. P. L. et al. Orofacial antinociceptive activity of codeine-associated geraniol in mice: a controlled triple-blind study. **Brazilian Oral Research**, v. 38, p. e071, 2024.

O'NEIL, M. J. **The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals**. [s.l.] RSc Publishing, 2013.

OBODOZIE, O. O. Pharmacokinetics and drug interactions of herbal medicines: A missing critical step in the phytomedicine/drug development process. **Reading in Advanced Pharmacokinetics-Theory, Methods, and Applications. Croatia: InTech**, p. 127–156, 2012.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979.

ORTIZ, M. I. et al. Synergistic effect of the interaction between naproxen and citral on inflammation in rats. **Phytomedicine**, v. 18, n. 1, p. 74–79, 2010.

ORTIZ, M. I. et al. Pharmacological interaction of α-bisabolol and diclofenac on nociception, inflammation, and gastric integrity in rats. **Drug Development Research**, v. 79, n. 1, p. 29–37, 2018.

PĂDURARU, D. N. et al. An Updated Overview of Cyclodextrin-Based Drug Delivery Systems for Cancer Therapy. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 8, 2022.

PAHWA, R.; GOYAL, A.; JIALAL, I. Chronic inflammation. 2018.

PATEL, N. B. Capítulo 3 Fisiologia da Dor. **Guia para o Tratamento da Dor em Contextos de Poucos Recursos**, p. 9, 2010.

PEANA, A. T. et al. (-)-Linalool produces antinociception in two experimental models of pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 460, n. 1, p. 37–41, 2003.

PEANA, A. T. et al. Effects of (-)-linalool in the acute hyperalgesia induced by carrageenan, L-glutamate and prostaglandin E2. **European Journal of Pharmacology**, v. 497, n. 3, p. 279–284, 2004.

PEANA, A. T. et al. (−)-Linalool inhibits in vitro NO formation: probable involvement in the antinociceptive activity of this monoterpene compound. **Life sciences**, v. 78, n. 7, p. 719–723, 2006.

PEREIRA, E. W. M. Limoneno complexado atenua a nocicepção orofacial com participação das vias PKA e PKC. 2021.

PEREIRA, I. et al. Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems.

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 171, p. 566–578, 2018.

PEREVA, S. et al. Efficiency of "cyclodextrin-ibuprofen" inclusion complex formation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 35, p. 34–39, 2016.

PERVEEN, S. Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids. **Terpenes and Terpenoids**, p. 1–12, 2018.

PEZZANI, R. et al. Synergistic effects of plant derivatives and conventional chemotherapeutic agents: an update on the cancer perspective. **Medicina**, v. 55, n. 4, p. 110, 2019.

PINHO, E. et al. Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 1, p. 121–135, 2014.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J. et al. β-Cyclodextrin-complexed (-)-linalool produces antinociceptive effect superior to that of (-)-linalool in experimental pain protocols. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, v. 113, n. 3, p. 167–172, 2013.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J. et al. β-Cyclodextrin-complexed (−)-linalool produces antinociceptive effect superior to that of (−)-linalool in experimental pain protocols. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 113, n. 3, p. 167–172, 2013.

RAINSFORD, K. D. Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety. **Inflammopharmacology**, v. 17, p. 275–342, 2009.

RAMOS, A. G. B. et al. Antiedematogenic and anti-inflammatory activity of the monoterpene isopulegol and its β-cyclodextrin (β-CD) inclusion complex in animal inflammation models. **Foods**, v. 9, n. 5, p. 630, 2020.

RINGKAMP, M. et al. A role for nociceptive, myelinated nerve fibers in itch sensation. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 42, p. 14841–14849, 2011.

RODRÍGUEZ-LÓPEZ, M. I. et al. Comprehensive characterization of linalool-HP-β-cyclodextrin inclusion complexes. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 5069, 2020.

SALTÃO, R.; VEIGA, F. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 1, p. 1–17, 2001.

SAWYNOK, J.; LIU, X. J. The formalin test: characteristics and usefulness of the model. **Reviews in analgesia**, v. 7, n. 2, p. 145–163, 2003.

SCHMID-SCHÖNBEIN, G. W. Analysis of inflammation. **Annu. Rev. Biomed. Eng.**, v. 8, n. 1, p. 93–151, 2006.

SNEDDON, L. U. Comparative physiology of nociception and pain. **Physiology**, v. 33, n. 1, p. 63–

73, 2018.

STEINMETZ, A. Back pain treatment: a new perspective. **Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease**, v. 14, p. 1759720X221100293, 2022.

TANG, J.; WENNERBERG, K.; AITTOKALLIO, T. What is synergy? The Saariselkä agreement revisited. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, n. SEP, p. 1–5, 2015.

TANNER, T. et al. The pharmacokinetic profile of a novel fixed-dose combination tablet of ibuprofen and paracetamol. **BMC clinical pharmacology**, v. 10, p. 1–12, 2010.

TENA, B. et al. Reproducibility of electronic von Frey and von Frey monofilaments testing. **The Clinical journal of pain**, v. 28, n. 4, p. 318–323, 2012.

THAKUR, R. A.; WANG, Y.; MICHNIAK, B. B. Essential oils and terpenes. In: **Percutaneous penetration enhancers**. [s.l.] CRC Press, 2005. p. 173–188.

THIENHAUS, O.; COLE, B. E. Classification of pain. **Pain management: A practical guide for clinicians**, p. 27–36, 2002.

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

WARREN, B. E. **X-ray Diffraction**. [s.l.] Courier Corporation, 1990.

WI, T. I. et al. Efficacy of combination therapy with linalool and doxorubicin encapsulated by liposomes as a two-in-one hybrid carrier system for epithelial ovarian carcinoma. **International journal of nanomedicine**, p. 8427–8436, 2020.

YANG, P. et al. Permeation of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and its inclusion complex through mouse small intestine determined by spectrophotometry. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 18, n. 2, p. 199–207, 2022.

YOUSAF, R. et al. Cyclodextrins: an overview of fundamentals, types, and applications. **Cyclodextrins-Core Concepts and New Frontiers**, 2022.

ZHOU, W. Z. et al. Synergistic antinociception between ZC88, an N-type voltage-dependent calcium channel blocker, and ibuprofen in mouse models of visceral and somatic inflammatory pain. **European Journal of Pain (United Kingdom)**, v. 23, n. 1, p. 46–56, 2019.

CAPÍTULO I: **Estratégias na farmacoterapia com produtos naturais como potenciais moduladores da eficácia de fármacos sintéticos: revisão sistemática de escopo ampliado de evidências experimentais e documentos de patentes.**

Isabel Sousa Alcântara[a]; Maria Alícia Cavalcante Narciso[a]; Lucas Yure Santos da Silva[a]; Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins[a]; Ricardo Neves Marreto[b]; Irwin Rose Alencar de Menezes[a]

[a] Laboratório de Farmacologia e Química Molecular, Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri, Rua Coronel Antônio Luís, nº 1161, Crato, 63105-000, CE, Brasil.

[b] Laboratório de Nanosistemas e Dispositivos de Liberação de Fármacos (NanoSYS), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Rua 240, Setor Universitário Leste, Goiânia, GO, 74605-170, Brasil.

*Corresponding author: Alcântara, IS (isabel.alcantara@urca.br); Menezes, IRA (Irwin.alencar@urca.br)

Resumo

Estratégias de terapias combinadas têm sido amplamente exploradas na farmacoterapia por seu potencial de aumentar a eficácia terapêutica por meio da modulação simultânea de múltiplas vias moleculares, melhoria da biodisponibilidade e redução de efeitos adversos. Nesse contexto, a associação entre produtos naturais e fármacos sintéticos tem emergido como uma abordagem promissora para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e tecnológicas. Esta revisão sistemática teve como objetivo analisar evidências experimentais e tecnológicas relacionadas aos efeitos terapêuticos e às inovações decorrentes da combinação entre produtos naturais e fármacos sintéticos. Os estudos experimentais demonstraram que compostos naturais, especialmente terpenos, compostos fenólicos, flavonoides e alcaloides, quando associados a fármacos sintéticos como anti-inflamatórios, analgésicos, antineoplásicos e antivirais, apresentam atividades terapêuticas relevantes, com destaque para efeitos antinociceptivos, anti-inflamatórios e anticancerígenos. A análise das patentes revelou um interesse tecnológico crescente na exploração dessas associações, com destaque para combinações envolvendo terpenos e compostos fenólicos associados a fármacos convencionais. As tecnologias descritas incluem formulações inovadoras e estratégias voltadas ao aumento da biodisponibilidade, potencialização terapêutica e desenvolvimento de sistemas avançados de liberação de fármacos. De modo consistente com os achados experimentais, muitas patentes exploram aplicações nas áreas de dor, inflamação, câncer e doenças infecciosas, indicando uma convergência entre a evidência científica e o desenvolvimento tecnológico. De modo geral, os achados desta revisão da literatura indicam que a combinação de fármacos sintéticos e produtos

naturais, em especial terpenos, flavonoide e produtos fenólicos, não apenas intensificam a resposta terapêutica anti-inflamatória e antitumorais, como também fomentam o desenvolvimento de plataformas farmacotecnológicas inovadoras e promissora para o desenvolvimento de terapias mais eficazes, seletivas e seguras.

Palavras-chave: Terapia combinada; Produtos naturais; Fármacos sintéticos; Biodisponibilidade; Inovação farmacotecnológica; Nanoformulações.

LISTA DE ABREVIATURAS

5-DMN – 5-Demetilnobiletina
AINEs – Anti-inflamatórios não esteroidais
BCS – Sistema de Classificação Biofarmacêutica
BCL-2 – Proteína B-cell lymphoma 2
CI – Índice de combinação (Combination Index, método de Chou-Talalay)
COX-1 – Ciclooxigenase-1
COX-2 – Ciclooxigenase-2
DOX – Doxorrubicina
EA – Ácido elágico
ED_{30} – Dose efetiva para 30% do efeito máximo
ED_{40} – Dose efetiva para 40% do efeito máximo
ED_{50} – Dose efetiva para 50% do efeito máximo
HCC – Carcinoma hepatocelular
IBU – Ibuprofeno
IL-6 – Interleucina 6
i.p. – Via intraperitoneal
LIN – Linalol
LN – Linalol lipossomal
NF-κB – Fator nuclear kappa B
NO – Óxido nítrico
N.r. – Não reportado
OL – Oleuropeína
PRISMA – Principais Itens para Relatar Revisões Sistemáticas e Meta-Análises
PTX – Paclitaxel
RoB – Risco de viés
ROS – Espécies reativas de oxigênio

SOR – Sorafenibe

TNF-α – Fator de necrose tumoral alfa

USPTO – Escritório de Patentes e Marcas dos Estados Unidos

v.o. – Via oral

1. Introdução

A busca por estratégias terapêuticas mais eficazes e seguras tem impulsionado o interesse científico na associação entre fármacos sintéticos e produtos naturais. Enquanto os fármacos sintéticos apresentam alta especificidade de ação e eficácia comprovada em diversas condições clínicas, os produtos naturais oferecem uma ampla diversidade de metabólitos secundários, capazes de modular simultaneamente múltiplos alvos moleculares (Castañeda et al., 2022; Gagare; Patil; Jain, 2024). Essa combinação, ao integrar a precisão dos fármacos sintéticos com o caráter multimodal dos compostos naturais, abre novas perspectivas para o tratamento de doenças complexas, como câncer, doenças infecciosas, distúrbios inflamatórios e condições neurodegenerativas (Mikkili et al., 2024; Tabolacci et al., 2019).

Em nível molecular, os produtos naturais podem atuar de diferentes formas nas vias de sinalização celular, interagindo com receptores, enzimas e canais iônicos (Martins-gomes; Silva, 2023). Essas interações podem resultar em efeitos sinérgicos quando combinadas com fármacos, seja pela inibição de vias pró-inflamatórias (como NF-κB e MAPK), pela regulação de mediadores oxidativos e citocinas, ou pela modulação da expressão gênica envolvida em processos de apoptose, proliferação celular e reparo tecidual (Bharathiraja et al., 2023). Além disso, compostos naturais como flavonoides, terpenos e alcaloides podem influenciar diretamente proteínas transportadoras, incluindo a glicoproteína P e transportadores da família ABC, aumentando assim a biodisponibilidade de fármacos que apresentam baixa absorção ou eliminação rápida (Bai et al., 2019; Wink; Ashour; El-readi, 2012).

Estudos recentes têm explorado a associação entre fármacos sintéticos e produtos naturais, demonstrando efeitos sinérgicos capazes de aumentar a eficácia terapêutica e reduzir a toxicidade. Por exemplo, em modelos de artrite reumatoide, a combinação de teriflunomida com produtos naturais como andrographolida, quercetina, resveratrol, rutina e tanshinona IIA reduziu significativamente os níveis de TNF-α e IL-6, evidenciando o potencial dessa estratégia para otimizar doses e minimizar efeitos adversos (Karnam et al., 2025). Além disso, a combinação de paracetamol com óxido de β-cariofileno em camundongos apresentou efeitos antinociceptivos e gastroprotetores

sinérgicos, sugerindo que abordagens combinadas podem potencializar a eficácia analgésica e reduzir efeitos adversos associados ao uso crônico de fármacos sintéticos (Espinosa-Juárez et al., 2024).

Além das evidências mecanísticas obtidas em estudos experimentais, observa-se um aumento no registro de patentes envolvendo novas formulações que combinam fármacos e produtos naturais, bem como sistemas avançados de liberação (Espinosa-Juárez et al., 2024). Essas inovações visam melhorar a estabilidade, a biodisponibilidade e a distribuição direcionada, demonstrando o potencial de tradução do conhecimento básico para aplicações clínicas e industriais (Oliveira, 2020).

Nesse contexto, esta revisão sistemática tem como objetivo analisar de modo mais específico *"Quais produtos naturais, isolados ou em extratos, apresentam evidências experimentais de modulação farmacológica de fármacos sintéticos, e como esses achados se refletem em depósitos de patentes?"*. A compreensão integrada da revisão da literatura científica com a análise de documentos patentários permite uma avaliação mais abrangente do potencial dos produtos naturais como moduladores da eficácia de fármacos sintéticos, ao reunir evidências experimentais sobre atividade farmacológica e mecanismos de ação com indicadores de aplicabilidade tecnológica, inovação e maturidade translacional.

2. Materiais e Métodos

2.1 Estratégia de Busca

Esta revisão sistemática foi conduzida de acordo com as diretrizes PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses), que fornece um protocolo estruturado para a condução de revisões e garante maior transparência na seleção dos estudos. O método incluiu as etapas de identificação, triagem, elegibilidade e inclusão, permitindo que os dados fossem organizados de forma clara e consistente.

A revisão teve como foco a seguinte questão: *"Quais produtos naturais, isolados ou em extratos, apresentam evidências experimentais de modulação farmacológica de fármacos sintéticos, e como esses achados se refletem em depósitos de patentes?"* Para responder a essa questão, foram consideradas publicações científicas e patentes disponíveis até agosto de 2025. Os artigos foram pesquisados nas bases de dados Scopus, PubMed (NCBI) e Web of Science, enquanto as patentes foram recuperadas nas bases INPI, Patentscope, Espacenet e USPTO.

Operadores booleanos (AND, OR, NOT) foram empregados para combinar os descritores utilizados nas buscas de artigos e patentes, garantindo maior precisão na identificação de estudos relevantes. A estratégia de busca incluiu combinações como: *"synthetic drugs" AND "natural products" AND "combination therapy" OR "synergy" AND "in vivo" AND (mice OR rat) AND*

("bioavailability" OR "drug delivery" OR "controlled release"), permitindo a abrangência de diferentes abordagens terapêuticas e tecnologias farmacêuticas associadas.

Critérios consistentes de inclusão e exclusão foram aplicados em todas as bases de dados. Foram incluídos estudos com texto completo, publicados em inglês, que abordassem interações entre fármacos e produtos naturais (como compostos isolados ou formulações), bem como patentes que descrevessem formulações, complexos de inclusão ou sistemas de liberação testados em associação. Estudos duplicados, comparativos, inconclusivos ou metodologicamente questionáveis foram excluídos, assim como patentes que não apresentassem detalhes técnicos suficientes. Após a triagem, os materiais selecionados foram analisados por meio de uma metassíntese qualitativa, integrando evidências da literatura acadêmica e das inovações tecnológicas patenteadas.

Embora esta revisão forneça uma visão abrangente do tema, ela se limita à análise de dados previamente publicados e registrados, o que pode introduzir limitações relacionadas à heterogeneidade metodológica e a potenciais vieses de publicação. Pesquisas experimentais adicionais são recomendadas para complementar e validar os achados apresentados.

2.2 Seleção dos Estudos

Inicialmente, foi realizada uma calibração prévia entre os pesquisadores, a fim de avaliar a concordância quanto à aplicação dos critérios de elegibilidade. A busca e a seleção dos artigos e das patentes foram conduzidas de forma independente por dois pesquisadores. Em um primeiro momento, os títulos e resumos foram triados com ajuda de formulário de avaliação padronizado para a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão. Em seguida, os estudos selecionados foram analisados na íntegra para confirmar sua elegibilidade de inclusão na revisão. Eventuais discordâncias entre os pesquisadores foram resolvidas por consenso.

2.3 Avaliação da Qualidade Metodológica / Risco de Viés (RoB)

O risco de viés (RoB) e a qualidade metodológica dos estudos *in vivo* selecionados, envolvendo animais não humanos, foram avaliados de forma independente por dois pesquisadores, conforme os critérios propostos por Hooijmans et al. (2014) (Hooijmans et al., 2014). A concordância entre os revisores quanto à aplicação dos critérios de elegibilidade foi avaliada por meio do coeficiente Kappa de Cohen. Esse método foi empregado para verificar a consistência da triagem dos estudos, mensurando o nível de concordância interavaliadores além daquela esperada ao acaso. Os valores de Kappa foram interpretados de acordo com a classificação de Landis e Koch. Embora as patentes indiquem forte interesse tecnológico e potencial translacional, é importante destacar que elas não exigem comprovação experimental rigorosa equivalente à dos estudos científicos, o que limita a

inferência direta sobre eficácia clínica. Assim, as patentes foram analisadas exclusivamente quanto ao seu escopo tecnológico, aplicação pretendida e relevância para o tema, enquanto a análise da qualidade metodológica foi conduzida apenas para os artigos científicos.

2.4 Síntese quantitativa dos dados e meta-análise

A síntese quantitativa foi realizada por meio de meta-análise utilizando o software Review Manager (RevMan), versão 5.4. Considerando a substancial heterogeneidade metodológica entre os modelos experimentais, fármacos sintéticos, compostos naturais e desfechos avaliados, todas as análises empregaram modelos de efeitos aleatórios, conforme recomendado quando há variabilidade esperada (Higgins et al., 2024).

Os desfechos contínuos foram sintetizados utilizando diferenças médias padronizadas (SMD) ou razões de médias (RoM), de acordo com as medidas de efeito reportadas nos estudos originais. As estimativas de efeito foram combinadas pelo método de variância inversa e apresentadas com seus respectivos intervalos de confiança de 95%. Para cada comparação, foram extraídos o tamanho da amostra, os valores médios e as medidas de dispersão (desvio padrão ou erro padrão da média). Quando apenas o erro padrão foi reportado, os desvios padrão foram calculados por meio da fórmula $DP = EPM \times \sqrt{n}$, em conformidade com as diretrizes metodológicas da Cochrane (Higgins et al., 2024). Quando os dados numéricos não estavam explicitamente disponíveis, os valores foram extraídos a partir de representações gráficas utilizando o WebPlotDigitizer, uma ferramenta validada amplamente utilizada em revisões sistemáticas e meta-análises (Drevon et al., 2017).

A heterogeneidade estatística foi avaliada por meio do teste Q de Cochran (χ^2) e quantificada pelo estatístico I^2, que estima a proporção da variabilidade total atribuível à heterogeneidade entre os estudos, em vez de erro amostral (Higgins & Thompson, 2002). A significância estatística dos efeitos combinados foi avaliada por meio do teste Z, adotando-se um nível de significância bicaudal de $p < 0,05$.

Os resultados das meta-análises foram apresentados graficamente por meio de diagramas de floresta (forest plots). A avaliação de viés de publicação por meio de gráficos de funil (funnel plots) não foi realizada. Essa decisão foi baseada no número limitado de estudos incluídos em cada meta-análise, uma vez que testes de assimetria de funnel plot apresentam baixo poder estatístico e podem produzir resultados enganosos quando há menos de 10 estudos disponíveis (Sterne et al., 2011; Higgins et al., 2024).

Para os desfechos antitumorais, a meta-análise quantitativa não foi realizada devido à substancial heterogeneidade entre os modelos experimentais, tipos de neoplasias, intervenções e medidas de desfecho, além de limitações como relato quantitativo incompleto e tamanhos amostrais reduzidos. Dessa forma, esses achados foram sintetizados por meio de uma abordagem narrativa

estruturada, com ênfase na direção dos efeitos antitumorais e na identificação de padrões de sinergismo farmacológico.

2.5 Análise de co-ocorrência de termos

Para complementar a análise dos estudos incluídos, foi realizada uma análise bibliométrica de co-ocorrência de termos utilizando o software VOSviewer. Inicialmente, os termos foram extraídos dos títulos e resumos dos artigos selecionados na revisão sistemática. Em seguida, os dados foram importados para o *software*, onde foi aplicada a técnica de análise de co-ocorrência, que permite identificar relações e frequência de associação entre palavras-chave presentes na literatura. Foi definido um número mínimo de ocorrências para inclusão dos termos na análise, permitindo a seleção dos termos mais relevantes dentro do conjunto de estudos analisados. O VOSviewer agrupou automaticamente os termos em clusters, representados por diferentes cores no mapa, indicando conjuntos de palavras que apresentam maior proximidade semântica e frequência de associação nos estudos.

2.6 Síntese dos Dados

Os resultados foram apresentados por meio de uma síntese narrativa, permitindo a integração e interpretação crítica dos achados provenientes dos estudos científicos e das patentes incluídas. Essa abordagem possibilitou a organização das informações de acordo com as características dos produtos naturais, dos fármacos sintéticos associados, dos modelos experimentais utilizados e dos principais desfechos farmacológicos observados. Quando aplicável, os dados foram comparados entre os diferentes estudos, buscando identificar padrões, convergências e lacunas na literatura. Dessa forma, a síntese narrativa contribuiu para uma visão abrangente e integrada do tema, evidenciando tanto os avanços quanto as limitações existentes na área.

3. Resultados

3.1 Extração e análise dos dados dos artigos

A busca inicial, utilizando descritores combinados com os operadores booleanos “AND”, “OR” e “NOT”, resultou em um total de 3.666 registros nas três bases de dados utilizadas. Antes da etapa de triagem, 2.124 registros duplicados foram removidos, e outros 621 registros foram excluídos por não atenderem aos critérios pré-definidos, restando 921 artigos para a triagem por título e resumo.

Após essa avaliação, 630 artigos foram excluídos, e 291 estudos foram selecionados para leitura do texto completo. Na etapa de elegibilidade, todos os textos completos foram recuperados e analisados; entretanto, 279 artigos foram excluídos e categorizados de acordo com três principais motivos: (1) texto completo indisponível (n = 97); (2) o estudo não estava diretamente relacionado ao objetivo da revisão (n = 148); e (3) ausência de dados relevantes para os desfechos investigados (n = 34). Ao final do processo, 12 artigos atenderam aos critérios de inclusão e foram incorporados a esta revisão **(Fig. 1).** Os dados extraídos dos artigos incluídos foram organizados de acordo com informações como o composto natural, o fármaco sintético, a atividade avaliada, o modelo experimental, as doses utilizadas e os principais desfechos observados. Informações detalhadas de cada estudo incluído estão apresentadas na **Tabela 1**.

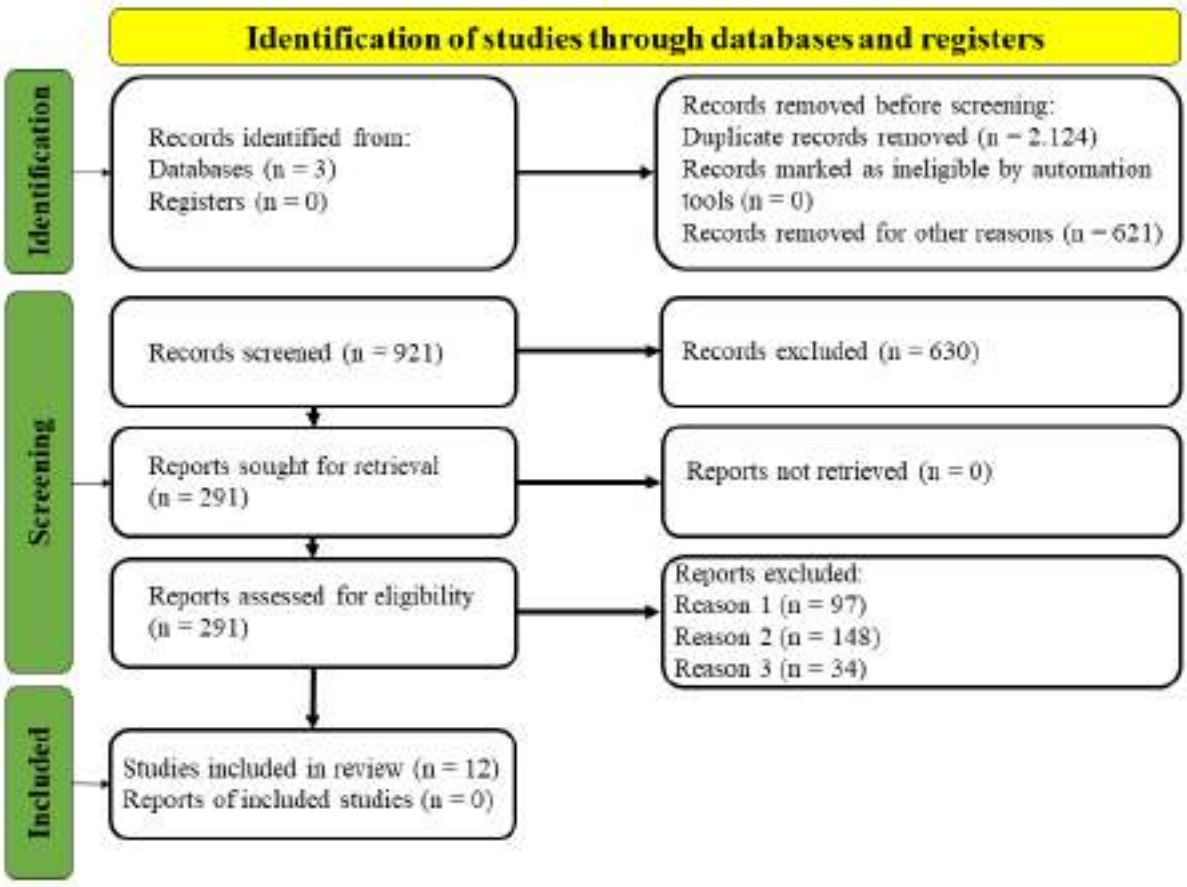


Fig. 1. Fluxograma ilustrando a busca na literatura de acordo com as diretrizes PRISMA.

Tabela 1. Artigos incluídos na revisão sistemática que avaliaram a combinação de compostos naturais com fármacos sintéticos, destacando o tipo de atividade biológica, o modelo experimental, as doses utilizadas e os principais desfechos observados.

Produto natural	Substância sintética	Atividade avaliada	Modelo experimental	Doses utilizadas e via de administração	Resultados	Referência
Óxido de β-cariofileno	Acetaminophen	Antinociceptiva e gastroprotetora	Modelo de lesão gástrica induzida por formalina e etanol em roedores	127,84mg/kg 63,92 mg/kg 31,96 mg/kg 15,98 mg/kg Via oral (v.o.)	A combinação apresentou efeito analgésico sinérgico e atividade gastroprotetora, sem envolvimento de receptores opioides ou serotoninérgicos, do óxido nítrico (NO) ou dos canais K^+ATP.	(Espinosa-Juárez et al., 2024)
Geraniol	Codeina	Atividade antinociceptiva orofacial	Ratos; testes de dor induzidos por formalina, glutamato e capsaicina	Geraniol/Codeina 50/7.5 mg/kg, 50/15 mg/kg, 50/30 mg/kg; Geraniol 50 mg/kg; Codeina 30 mg/kg Intraperitoneal (i.p.)	A combinação geraniol/codeína produziu um efeito antinociceptivo sinérgico em testes de dor orofacial, reduzindo a nocicepção em até 71,9% sem causar efeitos depressores centrais.	(Nunes et al., 2024)
Matrina	Acetaminophen	Analgesia	Contorções abdominais induzidas por ácido acético em roedores	1:1 → 10,52 mg/kg 1:3 → 9,13 mg/kg 3:1 → 4,98 mg/kg v.o.	Ambos os compostos inibiram as contorções de forma dependente da dose; a combinação apresentou um efeito analgésico sinérgico.	(Dai et al., 2021)
Ácido elágico (EA)	Sorafenibe (SOR)	Atividade anticancerígena	Carcinoma hepatocelular (HCC) em ratos e hepatócitos em cultura celular	N.r	EA e SOR, isolados ou em combinação, aumentaram a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), promoveram a desestabilização do potencial de membrana mitocondrial e a liberação de citocromo c; além	(Salimi; Saboji; Seydi, 2021)

					disso, intensificaram a atividade da caspase-3 e reduziram a viabilidade de hepatócitos de carcinoma hepatocelular (HCC), demonstrando um efeito sinérgico mediado pela apoptose mitocondrial.	
Rutina	Acetaminophen Diclofenaco Ketorolaco Naproxeno	Analgésica / Anti-inflamatória	Contorções abdominais induzidas por ácido acético em roedores	1,25–100 mg/kg v.o	EA e SOR, isolados ou em combinação, aumentaram a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), promoveram a desestabilização do potencial de membrana mitocondrial e a liberação de citocromo c; além disso, intensificaram a atividade da caspase-3 e reduziram a viabilidade de hepatócitos de carcinoma hepatocelular (HCC), demonstrando um efeito sinérgico mediado pela apoptose mitocondrial.	(Zapata-Morales., 2021)
Linalol Liposomal (LN)	Doxorubicina Liposoma (DOX)	Antitumoral	Modelo tumoral de carcinoma ovariano em camundongos nude BALB/c	LN: 100 mg/kg DOX: 5 mg/kg	O sistema lipossomal para a coadministração de LN e DOX aumentou significativamente a eficácia antitumoral em comparação às monoterapias, sem evidências de toxicidade, demonstrando potencial como uma terapia combinada contra o câncer.	(Wi et al., 2020)
Oleuropein (OL)	doxorubicin (DOX)	Atividade anticancerígena	Enxerto tumoral de mama em camundongos nude (BALB/c) e	OL 50 mg/kg and DOX 2.5 mg/kg (alone) or DOX 1.5	The OL + DOX combination reduced tumor volume by over threefold (from 173 mm^3 to 48.7 mm^3) and induced apoptosis via the mitochondrial pathway,	(Elamin et al., 2019)

			cultura celular (MDA-MB-231).	mg/kg + OL 50 mg/kg (combined). i.p.	inhibiting NF-κB, Cyclin D1, BCL-2, and survivin, demonstrating a synergistic effect superior to that of the individual treatments.	
5-Demethylnobiletin (5-DMN)	paclitaxel (PTX)	Atividade anticancerígena e antiproliferativa	Células de câncer de pulmão CL1-5 e xen enxerto em camundongos nude	Baixas doses combinadas (PTX + 5-DMN). N.r	A combinação OL + DOX reduziu o volume tumoral em mais de três vezes (de 173 mm^3 para 48,7 mm^3) e induziu apoptose por meio da via mitocondrial, com inibição de NF-κB, ciclina D1, BCL-2 e survivina, demonstrando um efeito sinérgico superior ao observado com os tratamentos isolados.	(Tan et al., 2019)
α-Bisabolol	Diclofenaco	Analgésica (antinociceptiva), anti-inflamatória e gastroprotetora	Teste da formalina (antinocicepção), inflamação de pata induzida por carragenina; avaliação de lesão gástrica	Administração sistêmica; doses isoladas ou combinadas; análise baseada no ED_{40} N.r	A combinação α-bisabolol + diclofenaco apresentou efeito sinérgico, com ED_{40} experimental inferior ao teórico (antinocicepção: 38,7 mg/kg; anti-inflamação: 13,4 mg/kg), além de provocar menor dano gástrico em comparação ao diclofenaco isolado.	(Ortiz et al., 2018)
Anetol	ibuprofeno	Atividade anti-inflamatória	Pleurisia e edema de pata em ratos	Doses únicas administradas por via oral (v.o.), 60 minutos antes da indução da inflamação.	A combinação anetol + ibuprofeno inibiu o desenvolvimento da inflamação em ambos os modelos, sendo parcialmente mediada pela inibição de TNF e COX-1/COX-2; o efeito sinérgico foi confirmado por análise isobolográfica.	(Wisniewski-Rebecca et al., 2015)

Citral	Naproxeno	Atividade anti-inflamatória e gastroprotetora	Edema de pata induzido por carragenina em ratos	Administração oral de doses isoladas ou combinadas; análise baseada no ED_{30}	Efeito anti-inflamatório sinérgico (ED_{30}: 190,6 mg/kg vs. 504,4 mg/kg), com redução do dano gástrico em comparação ao naproxeno isolado.	(Ortiz et al., 2010)
Baicaleína	Ribavirina	Atividade antiviral contra a influenza	Modelo murino (*in vivo*)	*in vivo*: baicaleína 100–400 mg/kg/d + ribavirina 50 mg/kg	Aumento da taxa de sobrevivência, redução da perda de peso e diminuição da inflamação pulmonar, demonstrando um efeito superior ao observado com cada fármaco utilizado isoladamente.	(Chen et al., 2011)

Conforme descrito na tabela: N.r. – não reportado.

Dos compostos naturais totais incluídos nos estudos analisados, 50% corresponderam a terpenos ou terpenoides (óxido de β-cariofileno, geraniol, linalol lipossomal, α-bisabolol, anetol e citral), 25% foram classificados como compostos fenólicos (ácido elágico, oleuropeína e baicaleína), 16,7% pertenciam à classe dos flavonoides (rutina e 5-desmetilnobiletina) e 8,3% corresponderam a alcaloides (matrina) **(Fig. 2a).**

Entre os fármacos sintéticos avaliados nos estudos incluídos, 45% pertenciam à classe dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), incluindo paracetamol, diclofenaco, ibuprofeno e naproxeno. Os fármacos antineoplásicos representaram 27% das associações, com destaque para a doxorrubicina (incluindo sua formulação lipossomal) e o paclitaxel. Os agentes antivirais corresponderam a 9% das combinações, tendo a ribavirina como principal representante, enquanto 19% dos estudos envolveram analgésicos opioides, como a codeína. Observou-se ainda que alguns fármacos, como paracetamol e diclofenaco, foram investigados em mais de um estudo, indicando seu uso recorrente como modelos farmacológicos de comparação **(Fig. 2b).** As fórmulas moleculares correspondentes aos compostos naturais e sintéticos analisados estão descritas na tabela 1 do material suplementar.

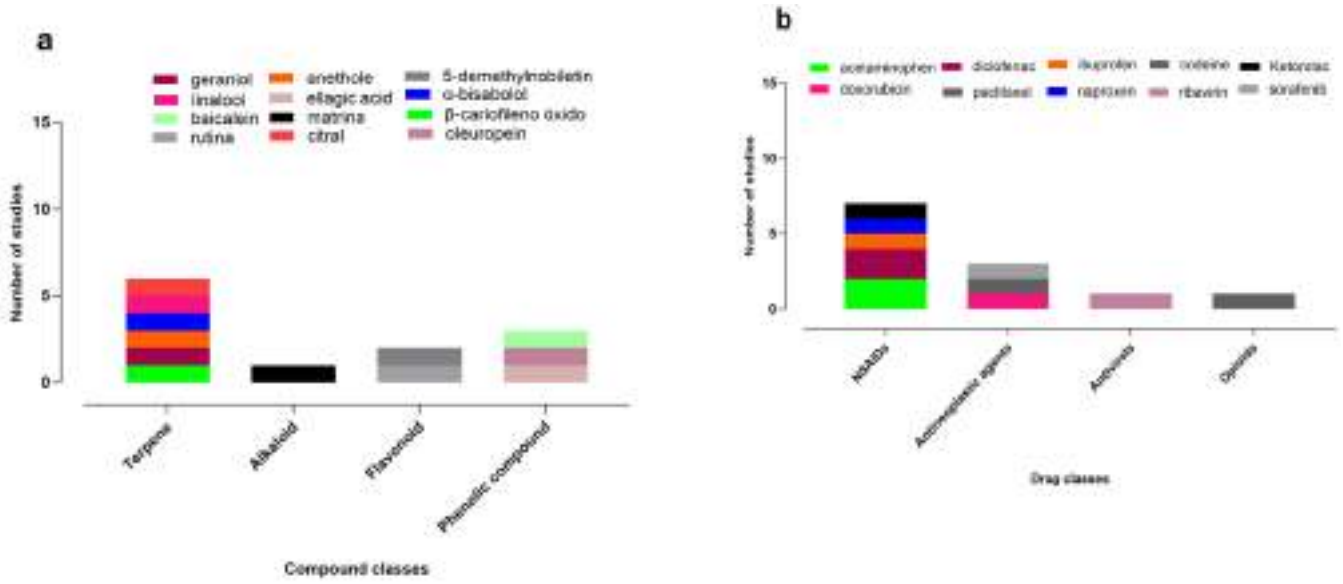


Fig. 2. Distribuição das classes de produtos naturais **(a)** e das classes de fármacos sintéticos **(b)** entre os artigos analisados.

Com relação aos tipos de atividades avaliadas, observou-se predominância da atividade antinociceptiva/analgésica (50%), seguida das atividades anti-inflamatória e anticancerígena/antitumoral (33,3% cada). A atividade gastroprotetora foi relatada em 25% dos estudos, enquanto apenas 8,3% demonstraram atividade antiviral **(Fig. 3).**

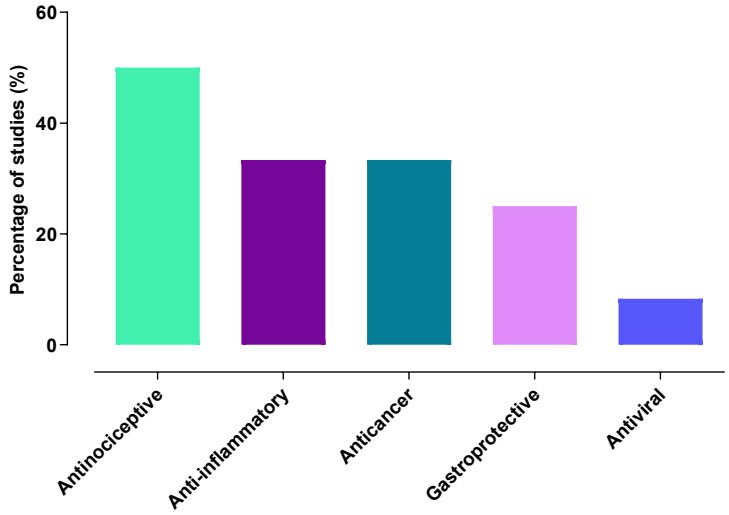


Fig. 3. Distribuição percentual das atividades farmacológicas relatadas nos artigos.

Na interpretação da curva de isobolograma o Efeito aditivo ocorre quando os pontos experimentais ficam sobre a linha de aditividade, enquanto, no efeito de Sinergismo os pontos ficam abaixo da linha de aditividade, entretanto, e Potencialização nem sempre é capturada corretamente por isobolografia clássica, pode-se usar Índice de combinação (CI – Chou-Talalay) ou Modelos de Bliss ou Loewe**.** A análise dos efeitos das combinações revelou uma predominância de sinergismo entre os compostos avaliados. Entre os doze estudos incluídos, dez (83,3%) demonstraram efeito sinérgico, evidenciado por reduções nos valores de ED_{50}/ED_{30}, análises por isobologramas ou aumento dos efeitos farmacológicos superiores aos obtidos com as substâncias isoladas. Dois estudos (16,7%) apresentaram potencialização do efeito, sugerindo eficácia superior em comparação à monoterapia, embora sem confirmação formal de sinergismo. Apenas um estudo (8,3%) apresentou efeito aditivo em combinação com o paracetamol **(Fig. 4).**

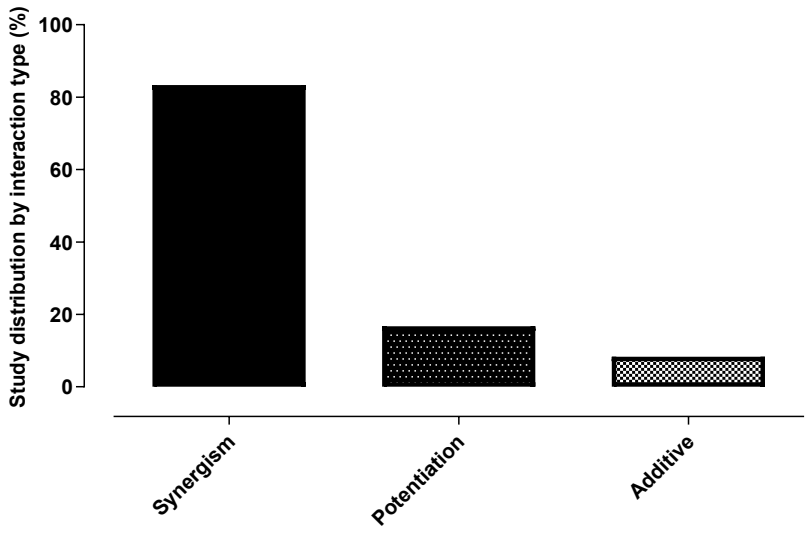


Fig. 4. Percentual de distribuição nos estudos dos efeitos de interação observados na combinações de produtos naturais com fármacos.

Em modelos pré-clínicos de nocicepção e inflamação, combinações como óxido de β-cariofileno + paracetamol, geraniol + codeína, matrina + paracetamol, α-bisabolol + diclofenaco, anetol + ibuprofeno e citral + naproxeno demonstraram eficácia antinociceptiva e anti-inflamatória significativa. Esses efeitos foram frequentemente mediados pela inibição de TNF, supressão de cicloxigenase-1 e cicloxigenase-2 (COX-1/COX-2), modulação de canais K^+ATP e vias serotoninérgicas, além da redução do dano gástrico em comparação à monoterapia **(Fig. 5).**

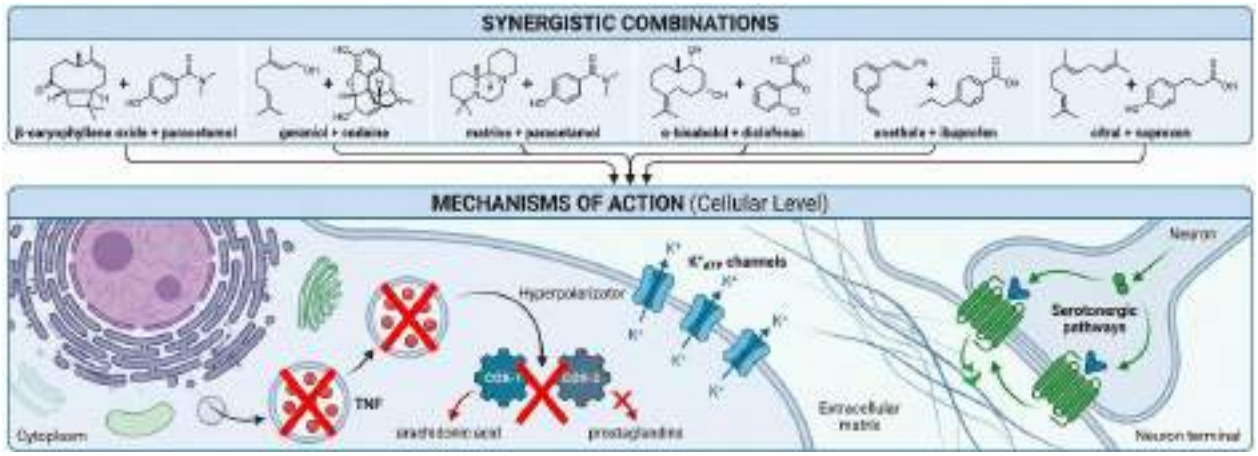


Fig. 5: Combinações entre compostos naturais e fármacos sintéticos e os principais mecanismos de ação envolvidos.

Quanto à atividade anticâncer, compostos naturais como ácido elágico, oleuropeína e 5-desmetilnobiletina, quando combinados com agentes quimioterápicos como sorafenibe, doxorrubicina ou paclitaxel, promoveram apoptose mitocondrial**,** ativação de caspases **e** redução significativa da viabilidade celular e do crescimento tumoral *in vivo*. Com relação, aos modelos de infecção viral, a combinação de baicaleína com ribavirina resultou em maior taxa de sobrevivência**,**

redução da perda de peso e diminuição da inflamação pulmonar, superando os efeitos observados com cada agente administrado isoladamente.

3.2 Análise de viés dos artigos

Para avaliar a qualidade metodológica e o risco de viés dos estudos analisados, foi utilizada a ferramenta SYRCLE's RoB. Esta ferramenta é baseada na Cochrane RoB tool (Higgins, 2011; Hooijmans et al., 2014) e adaptada para aspectos específicos de estudos experimentais envolvendo animais não humanos. A metodologia avaliou o risco de viés por meio de 10 questões, abrangendo vieses como seleção, execução, atrito e detecção, entre outros (Hooijmans et al., 2014).

Algumas evidências sugerem que o ambiente animal e as condições experimentais, como iluminação, umidade e temperatura, podem influenciar os resultados do estudo, afetando comportamento e respostas bioquímicas (Claassen, 2013; Hooijmans et al., 2014). Fatores como alocação aleatória dos grupos e o uso de tratamentos cegos são igualmente relevantes para garantir a qualidade metodológica.

Neste estudo, os artigos foram avaliados tanto qualitativa **(Tabela 2)** quanto quantitativamente **(Fig. 6)**, garantindo a reprodutibilidade dos critérios de risco adotados. A classificação inicial foi realizada independentemente por dois pesquisadores, obtendo um índice *kappa* de 0,623.

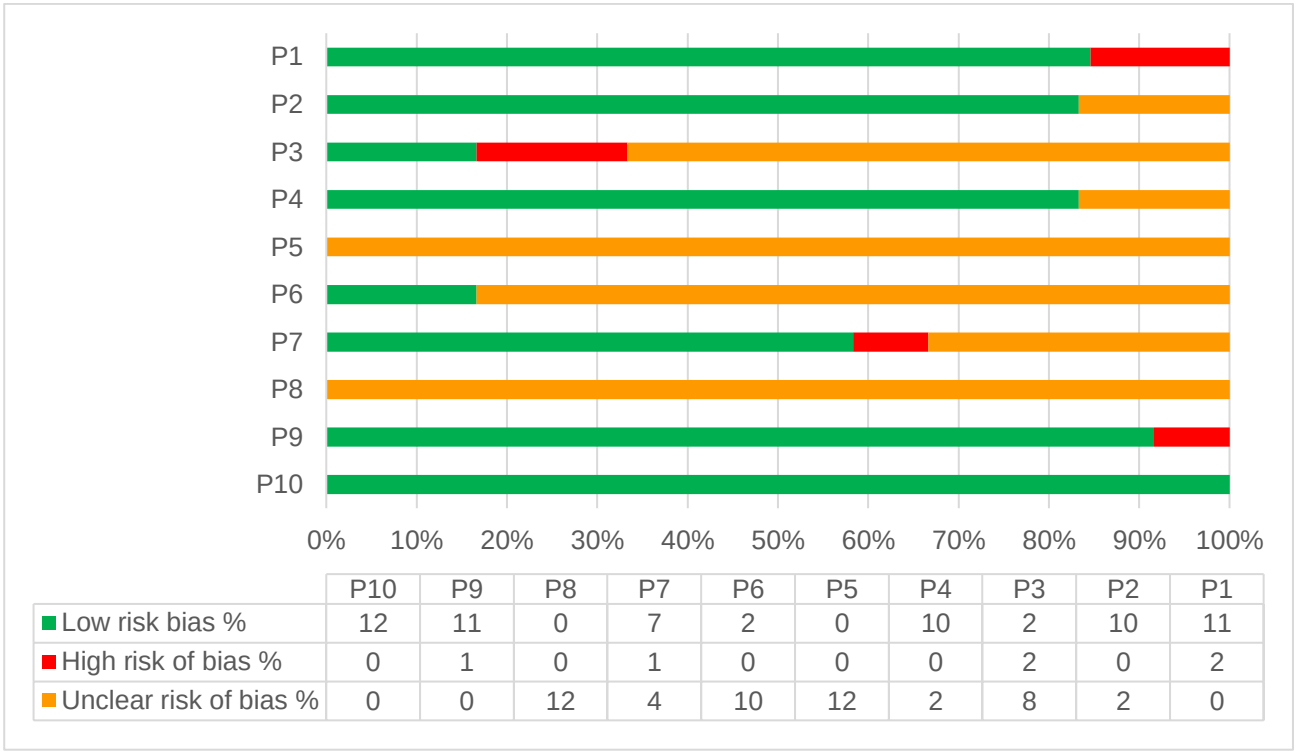
Tabela 2. Resumo do risco de viés.

Referência	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
(Espinosa-Juárez et al., 2024)	*	*	#	*	#	#	*	#	-	*
(Nunes et al., 2024)	-	*	#	*	#	#	#	#	*	*
(Dai et al., 2021)	*	*	#	*	#	*	*	#	*	*
(Salimi et al., 2021)	*	*	#	*	#	*	*	#	*	*
(Zapata-Morales et al., 2021)	-	*	#	*	#	#	*	#	*	*
(Wi et al., 2020)	*	#	#	*	#	#	#	#	*	*
(Elamin et al., 2019)	*	*	-	*	#	#	#	#	*	*
(Tan et al., 2019)	*	*	*	*	#	#	*	#	*	*
(Ortiz et al., 2018)	*	*	*	*	#	#	*	#	*	*
(Wisniewski-Rebecca et al., 2015a)	*	#	#	#	#	#	*	#	*	*
	*	*	#	#	#	#	#	#	*	*
(Ortiz et al., 2010)	*	*	-	#	#	#	-	#	*	*
(Chen et al., 2011)	*	*	#	*	#	#	#	#	*	*

Cada estudo incluído foi analisado pelos autores de acordo com as questões de julgamento (P1–P10) e classificado com base em seu risco de viés. Amarelo **(#)** indica risco de viés incerto/não claro; vermelho (−) indica alto risco de viés; e azul

(*) indica baixo risco de viés. As questões de julgamento e suas avaliações estão descritas na seção de informações suplementares**.**

Nenhum dos estudos *in vivo* incluídos nesta revisão apresentou baixo risco de viés (RoB) em todos os domínios avaliados. Entre os 12 estudos analisados, uma proporção substancial apresentou risco de viés incerto em pelo menos um dos critérios de julgamento (P1–P10), principalmente devido à falta de informações metodológicas detalhadas. Todos os estudos apresentaram pelo menos um domínio classificado com risco de viés incerto. Como ilustrado na fig. 6, a avaliação geral do risco de viés dos experimentos *in vivo* mostrou que aproximadamente 46% das avaliações foram classificadas como baixo risco**,** 42% como risco incerto e 12% como alto risco de viés**.** Esses achados indicam que, embora os efeitos sinérgicos sejam recorrentes, a qualidade metodológica limitada de parte dos estudos exige cautela na extrapolação dos resultados, reforçando a necessidade de delineamentos experimentais mais rigorosos e padronizados.



	P10	P9	P8	P7	P6	P5	P4	P3	P2	P1
Low risk bias %	12	11	0	7	2	0	10	2	10	11
High risk of bias %	0	1	0	1	0	0	0	2	0	2
Unclear risk of bias %	0	0	12	4	10	12	2	8	2	0

Fig. 6: A escala de risco de viés indica a proporção de artigos que atenderam a cada critério**.**

3.3 Síntese quantitativa dos dados e meta-análise

A síntese quantitativa por meta-análise avaliou os efeitos combinados de produtos naturais e fármacos sintéticos sobre desfechos antinociceptivos, anti-inflamatórios e gastroprotetores, utilizando um modelo de efeitos aleatórios.

Em relação aos desfechos antinociceptivos **(Fig. 7)**, a análise combinada resultou em uma diferença média padronizada de −2,19 (IC 95%: −3,10 a −1,29), favorecendo os grupos experimentais. O intervalo de confiança não incluiu o efeito nulo. A heterogeneidade entre os estudos foi moderada (I^2 = 53%; τ^2 = 0,56; χ^2 = 8,50, gl = 4, p = 0,07). O teste de efeito global foi estatisticamente significativo (Z = 4,74; p < 0,00001).

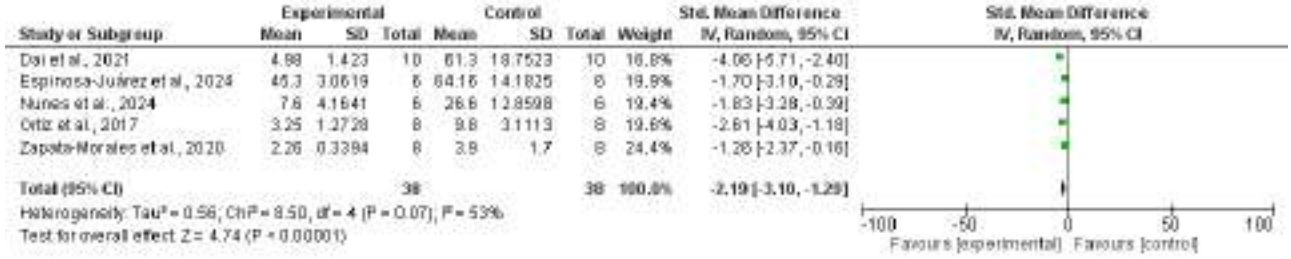


Fig. 7. Meta-análise dos efeitos antinociceptivos da associação entre produtos naturais e fármacos sintéticos. O gráfico de floresta apresenta a diferença média padronizada (SMD) com intervalo de confiança de 95% (modelo de efeitos aleatórios), comparando grupos experimentais e controles. Os resultados demonstram efeito significativo em favor dos grupos experimentais (SMD = −2,19; IC 95%: −3,10 a −1,29; p < 0,00001), com heterogeneidade moderada entre os estudos (I^2 = 53%).

A análise dos desfechos anti-inflamatórios **(Fig. 8)** demonstrou uma diferença média padronizada combinada de −1,97 (IC 95%: −2,83 a −1,11), favorecendo os grupos experimentais. O intervalo de confiança excluiu o valor nulo. Foi observada baixa heterogeneidade entre os estudos (I^2 = 26%; τ^2 = 0,20; χ^2 = 4,05, gl = 3, p = 0,26). O teste de efeito global indicou significância estatística (Z = 4,50; p < 0,00001).

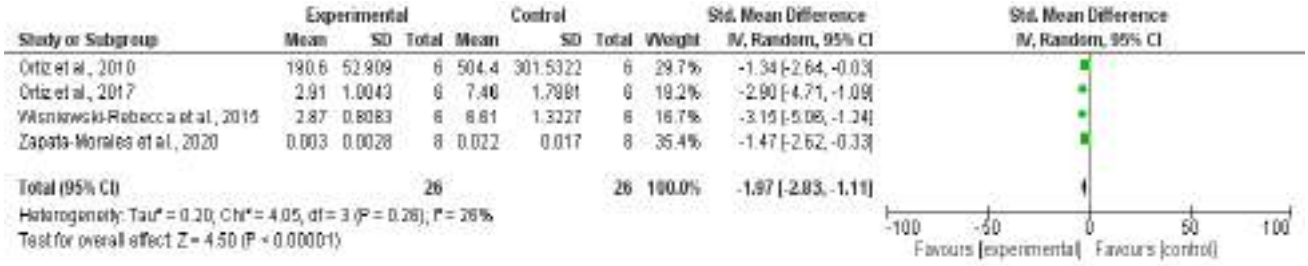


Fig. 8. Meta-análise dos efeitos anti-inflamatórios da associação entre produtos naturais e fármacos sintéticos. O gráfico de floresta apresenta a diferença média padronizada (SMD) com intervalo de confiança de 95% (modelo de efeitos aleatórios), comparando grupos experimentais e controles. Os resultados indicam efeito significativo em favor dos grupos experimentais (SMD = −1,97; IC 95%: −2,83 a −1,11; p < 0,00001), com baixa heterogeneidade entre os estudos (I^2 = 26%).

Na avaliação dos desfechos gastroprotetores **(Fig. 9)**, a análise combinada demonstrou uma diferença média padronizada de −3,88 (IC 95%: −5,01 a −2,75), favorecendo os grupos

experimentais. O intervalo de confiança permaneceu inteiramente no lado do efeito. Não foi detectada heterogeneidade entre os estudos ($I^2 = 0\%$; $\tau^2 = 0{,}00$; $\chi^2 = 1{,}79$, gl = 2, p = 0,41). O teste de efeito global foi estatisticamente significativo (Z = 6,72; p < 0,00001).

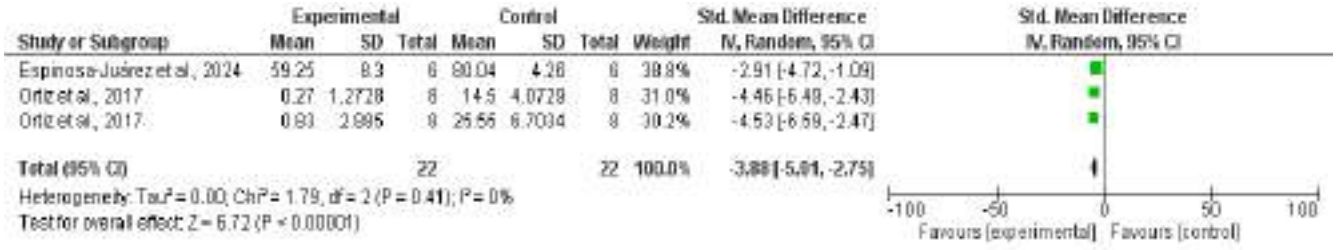


Fig. 9. Meta-análise dos efeitos gastroprotetores da associação entre produtos naturais e fármacos sintéticos. O gráfico de floresta apresenta a diferença média padronizada (SMD) com intervalo de confiança de 95% (modelo de efeitos aleatórios), comparando grupos experimentais e controles. Os resultados demonstram efeito significativo em favor dos grupos experimentais (SMD = −3,88; IC 95%: −5,01 a −2,75; p < 0,00001), sem heterogeneidade entre os estudos (I^2 = 0%).

3.4 Extração e triagem de patentes

A busca inicial de patentes identificou 833 registros em todas as bases de dados consultadas. Antes da etapa de triagem, 456 registros duplicados e 289 registros foram excluídos por outros motivos por não tratar diretamente de associação**.** Após essa etapa**,** 88 registros foram submetidos à triagem de títulos e resumos, resultando na exclusão de 42 registros por não atenderem aos critérios de inclusão da revisão**.** Subsequentemente, 46 registros foram selecionados para obtenção do texto completo, todos obtidos com sucesso. Após leitura completa dos 46 registros foram avaliados, 25 registros foram considerados elegíveis, sendo que 16 foram posteriormente excluídos com base em critérios específicos.

Ao final, nove patentes atenderam a todos os critérios de inclusão e foram incorporadas à análise crítica desta revisão **(Fig. 10)**. Informações detalhadas sobre as famílias de patentes estão apresentadas na **tabela 2**.

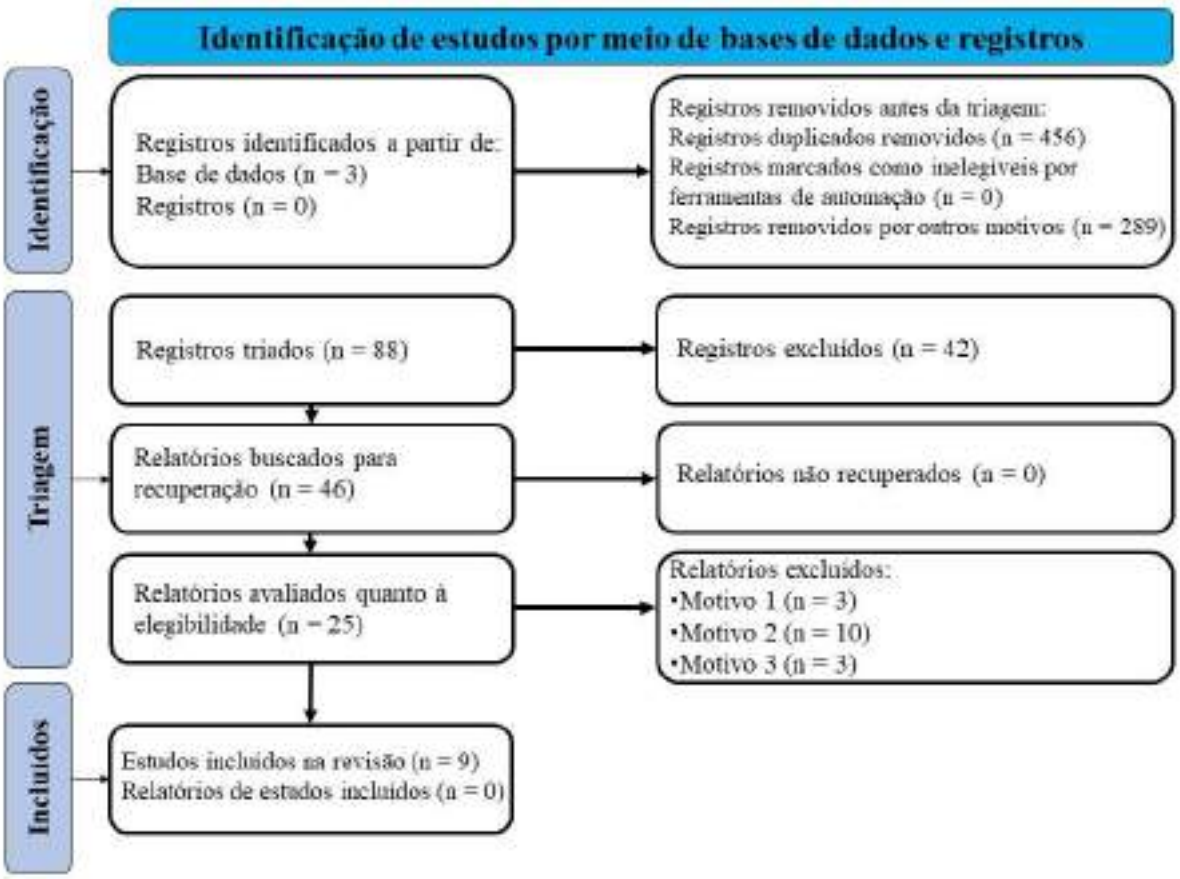


Fig. 10: Fluxograma representando o processo de identificação, triagem e seleção de patentes de acordo com as diretrizes PRISMA**.** Motivo 1: Patentes com texto completo indisponível**.** Motivo 2: Patentes que não abordaram a associação entre produtos naturais e fármacos sintéticos**.** Motivo 3: Patentes que avaliaram exclusivamente combinações de fármacos sintéticos ou que não investigaram mecanismos de ação**.**

Tabela 2. Patentes incluídas na revisão sistemática que investigou a combinação de compostos naturais e fármacos sintéticos.

Combinação	Finalidade	Indicação terapêutica	Principais reivindicações	País/Ano de Depósito	Número
Tizanidina + Resveratrol + Piperina	Aumentar a biodisponibilidade da tizanidina e reduzir a dose terapêutica necessária.	Espasmos musculares	Coadministração de tizanidina com resveratrol e biointensificadores (piperina, alho, gengibre, etc.) em formulações farmacêuticas; aumento da biodisponibilidade (10–100%) e redução da dose (5–95%).	Índia/2022	EP3946267A1
Berberina + Ácido bempedoico	Composição farmacêutica para o tratamento da dislipidemia, incluindo formulações orais (comprimidos, cápsulas e grânulos), com exemplos específicos.	Hiperlipidemia / redução do colesterol LDL e ação anti-inflamatória.	A combinação de ácido bempedoico com berberina produz um efeito sinérgico na redução dos lipídios plasmáticos (colesterol total, LDL-C e triglicerídeos), superior ao de cada composto isoladamente, reduz marcadores inflamatórios como hs-CRP e IL-6 e apresenta baixa hepatotoxicidade.	China/2020	CN113133997A
Limoneno + ibuprofeno	Preparar formulações eutéticas combinando terpenos e AINEs para o tratamento do câncer.	Anticancerígeno	Reivindica um composto eutético terapêutico contendo um AINE (anti-inflamatório não esteroidal) + um terpeno, que apresenta propriedades físico-químicas aprimoradas (como maior solubilidade e estado líquido) e atividade antiproliferativa aumentada em comparação aos componentes individuais, com	Portugal/2020	WO2020188547A1

			efeito potencializado pela combinação**.**		
Um ou mais canabinoides sintéticos + um ou mais terpenos/terpenoides **(**limoneno, linalol e pineno).	Inibir a via de sinalização Hedgehog (HH) para: Prevenir, inibir ou reverter a proliferação tumoral; Prevenir doenças oculares relacionadas à neovascularização e à angiogênese	Tratamento de tumores dependentes da via Hedgehog e de doenças oculares associadas à neovascularização.	A combinação "sinérgica" de canabinoides + terpenos é reivindicada como mais eficaz do que os compostos individuais na inibição da via Hedgehog, na redução da proliferação tumoral, da invasão vascular e da neovascularização ocular**.**	Canadá/2018	WO2018205038A1
Linalol + Paclitaxel	Desenvolvimento de uma nanoemulsão de linalol com atividade anticancerígena, aplicável a múltiplos tipos de tumores; podendo ser utilizada isoladamente ou em associação com fármacos quimioterápicos.	Anticancerígeno	Formulação de nanopartículas estabilizadas por polímeros; uso em diversos tipos de câncer (oral, hepático, gástrico, mama, pulmão, etc.); composição injetável; potencial combinação sinérgica com agentes anticancerígenos.	Coreia do Sul/2017	WO2017073877A1
Quercetina + Ciclofosfamida	Método para o tratamento do câncer por meio da combinação de um agente quimioterápico com uma composição contendo quercetina, associada à vitamina B3**,** vitamina C e/ou ácido fólico**.**	Anticancerígeno	A coadministração de quercetina com um agente quimioterápico reduz os efeitos colaterais da quimioterapia, permite a redução da dose efetiva do agente quimioterápico em até 2–10 vezes mantendo ou melhorando a eficácia e pode tornar os quimioterápicos eficazes contra cânceres resistentes.	US/2015	WO2015196036A1

Curcumina + Paclitaxel Curcumina + Aspirina	Composições farmacêuticas que combinam derivados de curcumina com outros agentes (como paclitaxel ou aspirina) para aumentar a eficácia anticâncer ou anti-inflamatória por meio de sinergia.	Anticancerígeno e anti-inflamatório.	A curcumina ou seus derivados potencializam o efeito terapêutico do agente, apresentando atividade anticancerígena ou analgésica/anti-inflamatória sinérgica; incluem diversos derivados e conjugados.	US/2015	US9012411B2
Artemisinina + Piperaquina + Primaquina	Composição farmacêutica para o tratamento da malária, que combina artemisinina com outros antimaláricos para aumentar a eficácia, reduzir a toxicidade e simplificar o regime terapêutico.	Antimalárico	Combinação de artemisinina, piperaquina e primaquina em proporções específicas para tratamento eficaz, com menos efeitos colaterais e menor custo de produção; a primaquina em baixa dose bloqueia a gametogênese do *Plasmodium*.	US/2004	US7851512B2
Capsaicina + di-hidrocloreto de histamina	Composição tópica para alívio da dor que combina capsaicina com outros ingredientes para reduzir o desconforto causado pela aplicação de capsaicina na pele.	Artrite, neuropatia, cicatrizes pós-cirúrgicas e prurido.	Proporciona alívio da dor ao mesmo tempo em que minimiza a sensação de ardor causada pela capsaicina, por meio da ação dos demais componentes.	US/1999	US6197823B1

A análise temporal das patentes revelou uma maior concentração de depósitos em 2020 (M = 3; 33,3%), seguida por 2015 (n = 2; 22,2%). Os anos restantes (1999, 2004, 2017 e 2018) apresentaram cada um apenas uma família de patentes (11,1%), indicando uma distribuição mais esporádica ao longo do tempo **(Fig. 11).** Esse padrão sugere que o desenvolvimento de tecnologias envolvendo a associação entre produtos naturais e fármacos sintéticos ocorre de forma episódica, possivelmente influenciado por avanços científicos, demandas terapêuticas e contextos específicos de inovação.

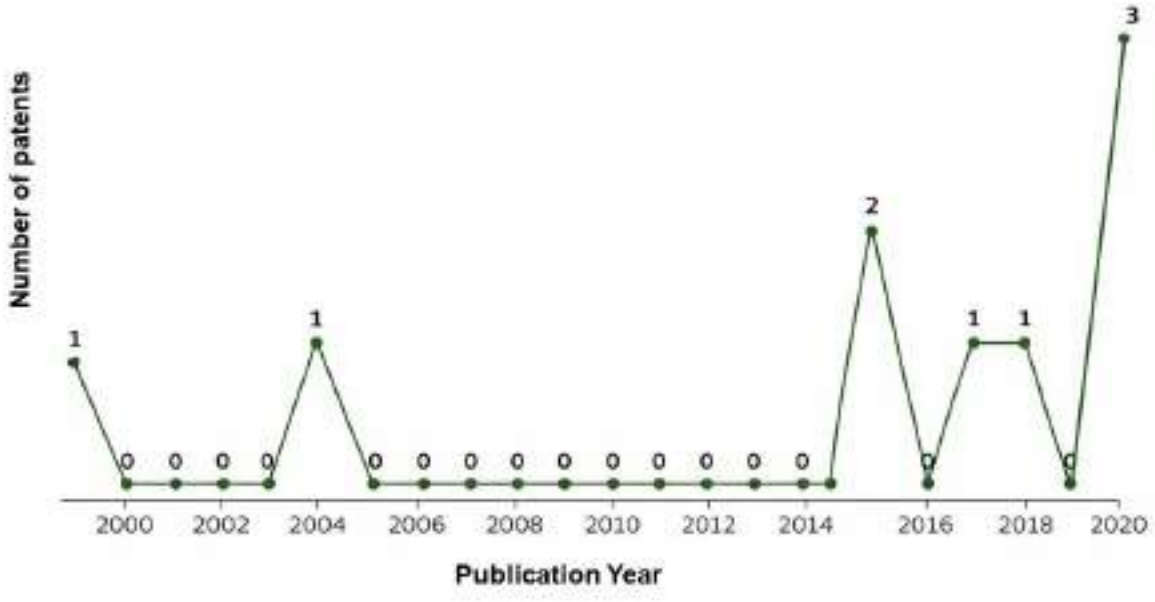


Fig. 11: Número de famílias de patentes e os anos de concessão.

A análise geográfica das famílias de patentes revelou a distribuição dos depósitos entre diferentes países. Os Estados Unidos apresentam registros ao longo de vários períodos, com destaque para 2015, que concentrou o maior número de famílias de patentes, indicando um pico de atividade inovadora nesse intervalo. Outros países, como China, Portugal, Índia, Canadá e Coreia do Sul, aparecem de forma mais esporádica, com depósitos concentrados em anos específicos, demonstrando uma participação menos contínua, porém relevante, no panorama tecnológico analisado.

De modo geral, observa-se um aumento no número de concessões nos anos mais recentes, sugerindo uma tendência crescente de interesse e desenvolvimento de tecnologias relacionadas ao tema abordado, refletindo a expansão global da pesquisa e da proteção da propriedade intelectual nesse campo **(Fig. 12).**

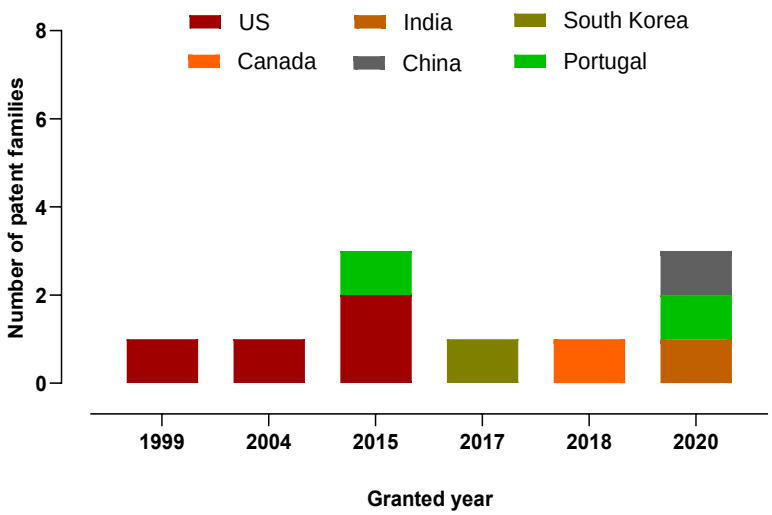


Fig. 12: Número de famílias de patentes concedidas por ano, distribuídas de acordo com o país de origem.

Entre os compostos naturais presentes nas patentes analisadas, observou-se uma predominância de diferentes classes químicas. Os terpenos (limoneno, pineno, linalol, capsaicina e piperina) foram a classe mais representativa, correspondendo a 54,5% dos compostos. Os compostos fenólicos (resveratrol, quercetina, curcumina e artemisinina) representaram 36,4%, enquanto os alcaloides (berberina) corresponderam a 9,1% dos compostos **(Fig. 13 a)**.

Com relação aos produtos sintéticos, identificou-se uma diversidade de fármacos convencionais e compostos sintéticos utilizados em associação com produtos naturais. Os anti-inflamatórios e analgésicos (tizanidina, ibuprofeno e aspirina) foram a classe mais representativa, correspondendo a 33,3% dos compostos. Os fármacos anticancerígenos ou quimioterápicos (paclitaxel e ciclofosfamida) representaram 22,2%, enquanto os antimaláricos (piperaquina e primaquina) também corresponderam a 22,2%. Por fim, a histamina di-hidrocloreto, classificada como agente vasoativo/fármaco experimental, e os canabinoides sintéticos, classificados como neuromoduladores, representaram conjuntamente 22,2% dos produtos sintéticos **(Fig, 13 b)**. É importante ressaltar que alguns artigos, assim como as patentes, avaliaram mais de um composto no mesmo estudo, sejam eles naturais ou sintéticos, o que contribuiu para o total de compostos incluídos nesta análise.

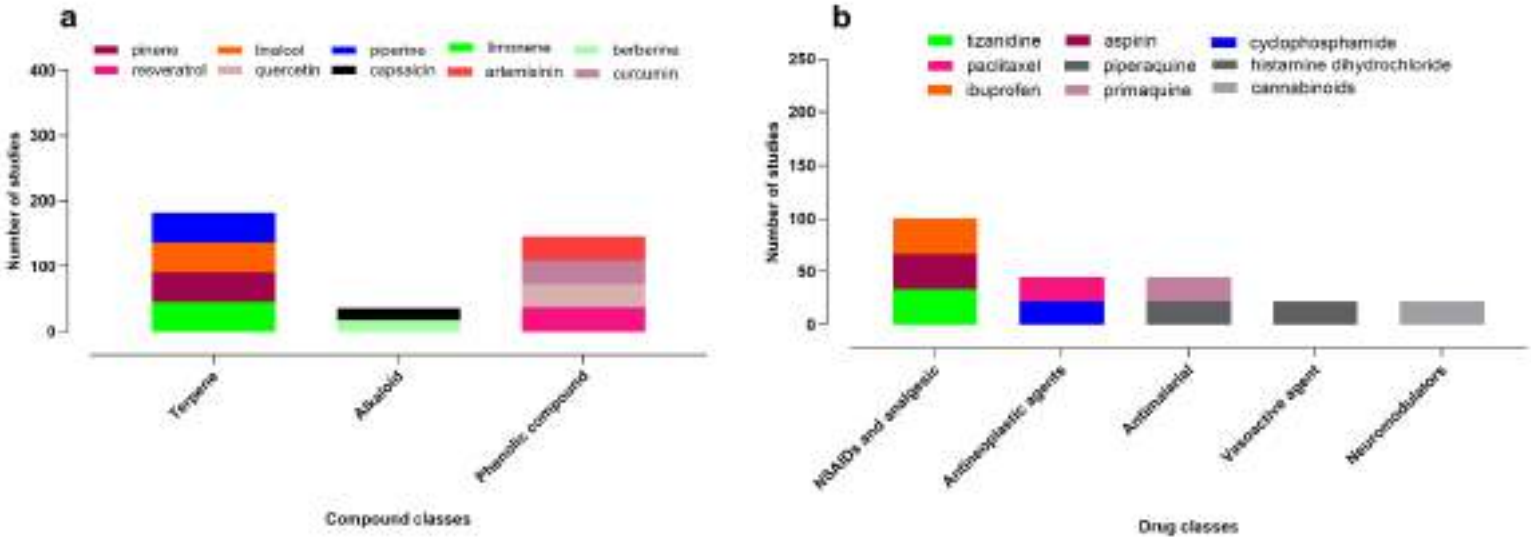


Fig. 13. Distribuição das classes de produtos naturais **(a)** e das classes de fármacos sintéticos **(b)** entre os estudos analisados.

A distribuição das atividades biológicas identificadas entre as patentes analisadas revelou um claro predomínio das aplicações anticancerígenas, que corresponderam a 55,56% do total. A atividade anti-inflamatória foi a segunda mais frequentemente relatada, correspondendo a 22,22%. As demais atividades apresentaram uma distribuição semelhante, com ações antihiperlipidêmica, antimalárica, antiespasmódica e cicatrizante representando, cada uma, 11,11%. Esse perfil evidencia um forte foco em condições oncológicas e inflamatórias, ao mesmo tempo em que demonstra diversidade terapêutica em outras indicações farmacológicas **(Fig. 14).**

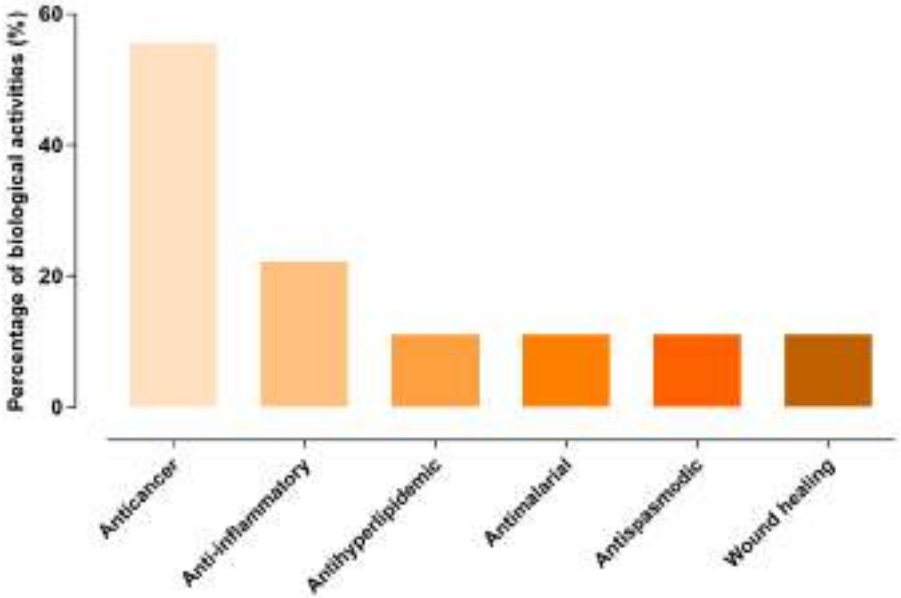


Fig. 14. Distribuição percentual das atividades farmacológicas relatadas nas patentes.

No que diz respeito ao tipo de interação observado nas patentes, a análise dos efeitos das combinações descritas revelou uma predominância de potencialização entre os compostos avaliados. Entre as nove patentes incluídas, seis (66,7%) demonstraram efeito de potencialização, evidenciado por aumento da biodisponibilidade, da bioeficácia ou melhoria do efeito terapêutico de um dos compostos em comparação à administração isolada. Ademais, três patentes (33,3%) apresentaram efeito sinérgico, sugerindo que a ação combinada dos compostos foi maior do que a soma dos efeitos individuais. Nenhuma patente (0%) relatou efeito aditivo, indicando que as associações entre produtos naturais e compostos sintéticos tendem a gerar principalmente potencialização ou sinergia **(Fig. 15).**

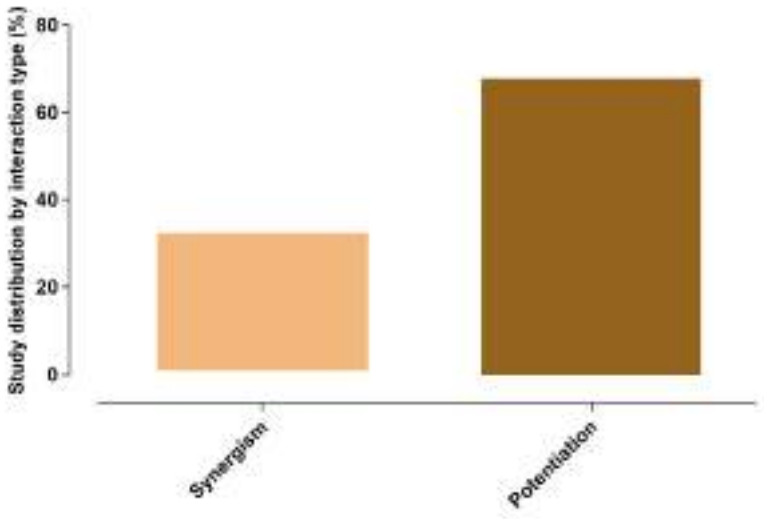


Fig. 15. Distribuição dos efeitos de interação observados nas patentes.

3.4 Análise bibliométrica de artigos e patentes

A Figura 13 apresenta uma visualização bibliométrica integrando artigos científicos e documentos de patente, evidenciando uma rede multidimensional organizada em clusters temáticos que refletem as principais frentes de investigação e inovação relacionadas ao uso de produtos naturais, fitoquímicos e terapias combinadas. O cluster central, formado por termos como fitoquímicos, produtos naturais e plantas medicinais, apresenta elevada densidade de conexões e atua como o núcleo estrutural da rede, indicando convergência entre a literatura acadêmica e a atividade patentária no estudo de metabólitos bioativos de origem vegetal e de estratégias terapêuticas baseadas em associações. Esse agrupamento evidencia o papel desses compostos na modulação de vias celulares

relevantes, como inflamação, citotoxicidade e atividade antiproliferativa, tanto em estudos experimentais quanto em propostas tecnológicas.

Clusters periféricos representam aplicações terapêuticas específicas e abordagens mecanísticas, destacando-se termos relacionados a carcinoma hepatocelular, apoptose, farmacocinética, terapia combinada e fracionamento guiado por atividade, os quais apontam para a preocupação com a translação clínica e a otimização da eficácia terapêutica. Adicionalmente, a presença de termos associados à descoberta de fármacos, etnomedicina, farmacologia de redes, citocinas, angiogênese e sinergia reforça que tanto os artigos quanto as patentes convergem para abordagens integrativas, nas quais compostos naturais são explorados como moduladores da eficácia e do perfil farmacológico de agentes sintéticos.

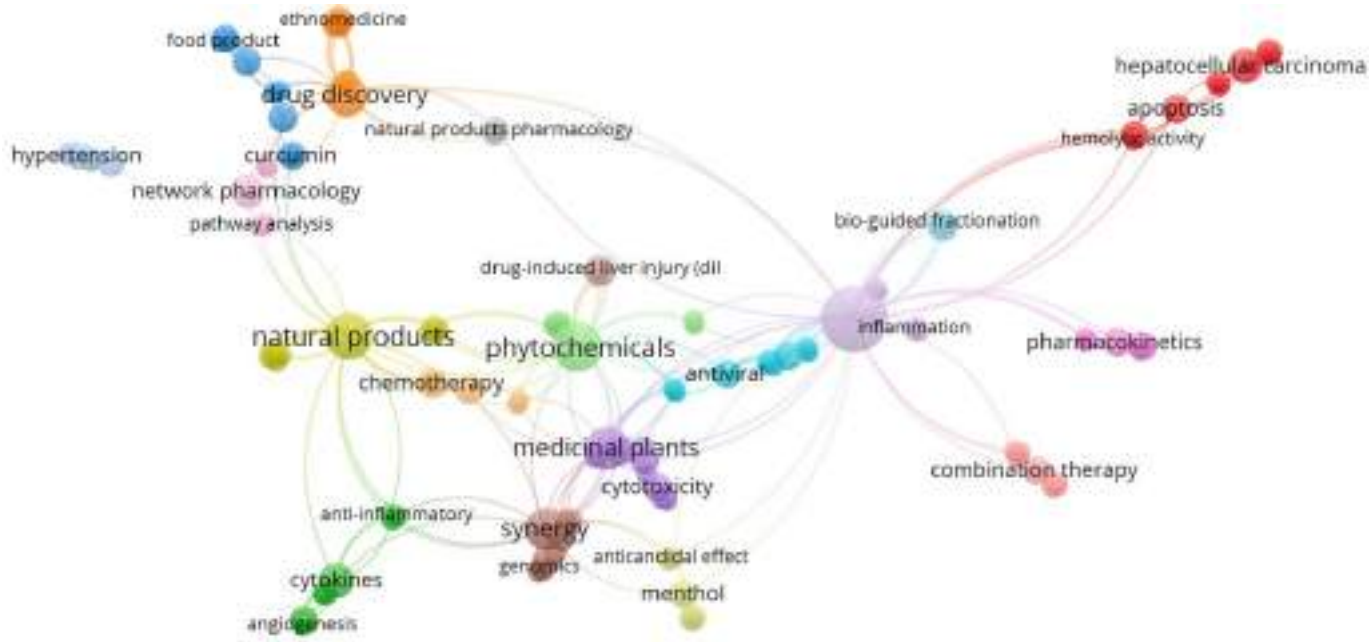


Fig. 16: Mapa bibliométrico de co-ocorrência de termos, construído com o VOSviewer, destacando a estrutura conceitual dos artigos e patentes sobre interações entre compostos naturais e agentes sintéticos.

4. Discussão

Os estudos incluídos nesta revisão demonstram que a combinação entre fármacos sintéticos e produtos naturais pode produzir efeitos terapêuticos superiores em comparação ao uso isolado de cada composto, evidenciando um campo emergente de inovação farmacológica.

Em modelos de dor e inflamação, o óxido de β-cariofileno potencializou a atividade do paracetamol, promovendo uma resposta antinociceptiva e gastroprotetora mais robusta, sem envolvimento direto dos sistemas serotoninérgico ou opioide, do óxido nítrico (NO) ou dos canais

K^+ATP, sugerindo um mecanismo sinérgico independente dessas vias (Espinosa-Juárez et al., 2024). De forma semelhante, a associação de geraniol com codeína reduziu significativamente a nocicepção em diferentes modelos experimentais (glutamato, formalina e capsaicina), permitindo a redução da dose do opioide e a minimização de efeitos adversos centrais, particularmente relevantes diante das limitações clínicas dessa classe farmacológica (Nunes et al., 2024). Esses achados reforçam que os produtos naturais podem modular vias periféricas e centrais complementares às dos analgésicos convencionais, aumentando a eficácia global das terapias combinadas.

A redução das doses necessárias de paracetamol e codeína nessas associações merece destaque, considerando os perfis de segurança desses fármacos. No caso do paracetamol, evidências apontam para aumento do risco de hemorragia gastrointestinal, hipertensão sistólica, eventos cardiovasculares, asma, lesão renal e efeitos adversos decorrentes da exposição intrauterina, todos parcialmente dependentes da dose (Mccrae et al., 2018). Já a codeína apresenta efeitos típicos de opioides, como sedação, constipação e potencial de dependência, além da variabilidade metabólica associada ao CYP2D6, que pode intensificar efeitos indesejáveis em metabolizadores ultrarrápidos (Ashraf et al., 2019; Xie et al., 2021). Nesse contexto, estratégias que permitam a redução da dose sem perda da eficácia analgésica tornam-se particularmente relevantes, pois aumentam a segurança terapêutica e representam abordagens mais racionais para o manejo da dor.

Evidências adicionais de interação analgésica sinérgica envolvendo o paracetamol foram observadas em associação com matrina, um alcaloide natural, em modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético em camundongos. Análises isobolográficas demonstraram que as doses efetivas experimentais das combinações foram significativamente inferiores às doses aditivas teóricas, confirmando um efeito sinérgico e indicando maior eficácia analgésica com doses reduzidas de ambos os compostos (Dai et al., 2021).

O potencial de sinergismo também foi evidente em formulações voltadas ao tratamento de doenças inflamatórias e gastrointestinais. A associação de rutina com diferentes anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), como diclofenaco, cetorolaco e piroxicam, promoveu efeitos sinérgicos ao reduzir a produção de NO em modelos celulares, além de potencializar a atividade anti-inflamatória desses fármacos (Zapata-Morales et al., 2021). O uso de flavonoides como adjuvantes terapêuticos pode ainda contribuir para a proteção do trato gastrointestinal e para a modulação de vias oxidativas e inflamatórias, atenuando efeitos adversos clássicos associados aos AINEs (Al-Khayri et al., 2022).

Efeitos semelhantes foram observados com o α-bisabolol, cuja coadministração com diclofenaco reduziu significativamente o edema inflamatório e a atividade da COX-2, permitindo o uso de doses menores do AINE e diminuindo o risco de toxicidade gástrica (Ortiz et al., 2018). Em consonância com esses achados, o anetol combinado com ibuprofeno apresentou efeito anti-inflamatório sinérgico, reduzindo TNF-α, IL-6 e COX-2 de forma mais intensa do que cada composto

isoladamente (Wisniewski-Rebecca et al., 2015). De modo semelhante, a combinação de naproxeno e citral também demonstrou interação sinérgica, confirmada por análise isobolográfica, promovendo efeito anti-inflamatório superior ao esperado e reduzindo significativamente os danos gástricos induzidos pelo AINE, o que reforça o potencial dos terpenos naturais como moduladores de eficácia e segurança em terapias anti-inflamatórias combinadas (Ortiz et al., 2010).

O uso de AINEs em altas doses está associado a diversos efeitos adversos celulares, principalmente em razão da inibição prolongada das ciclooxigenases (COX). A redução das prostaglandinas citoprotetoras compromete a integridade da mucosa gástrica e intestinal, promovendo estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, aumento da permeabilidade celular, ativação de vias pró-apoptóticas e indução de morte celular, além de prejuízos aos sistemas cardiovascular e renal (Arffen et al., 2024; Sohail et al., 2023). Esses achados reforçam a necessidade de desenvolver estratégias terapêuticas capazes de minimizar a toxicidade celular associada ao uso prolongado ou em altas doses desses fármacos.

Os dados analisados revelaram uma concentração importante de compostos naturais pertencentes à classe dos terpenos e terpenoides, que corresponderam a 50% do total incluído nos estudos, com destaque para óxido de β-cariofileno, geraniol, linalol lipossomal, α-bisabolol, anetol e citral (Espinosa-Juárez et al., 2024; Nunes et al., 2024; Wi et al., 2020; Ortiz et al., 2018; Wisniewski-Rebecca et al., 2015; Ortiz et al., 2010). Esse predomínio sugere que essa classe química vem sendo amplamente explorada como fonte de moléculas bioativas com potencial para modular a resposta farmacológica de fármacos sintéticos. Tal tendência pode ser explicada pelas propriedades farmacológicas amplamente atribuídas aos terpenos, incluindo atividades anti-inflamatória, analgésica, antioxidante e moduladora de vias de sinalização celular, características que favorecem sua utilização em estratégias combinatórias (Ge et al., 2022). Além disso, a diversidade estrutural desses compostos e sua elevada lipofilicidade podem contribuir para interações farmacodinâmicas e farmacocinéticas relevantes, ampliando o interesse científico e tecnológico por essa classe (Anjali et al., 2026).

De modo convergente, observou-se que 45% dos fármacos sintéticos avaliados pertenciam à classe dos AINEs, evidenciando que essa é a principal classe farmacológica investigada nas associações com compostos naturais. Esse achado é coerente com a ampla utilização clínica dos AINEs no manejo da dor e da inflamação, mas também com suas limitações, especialmente os efeitos adversos gastrointestinais, renais e cardiovasculares associados ao uso prolongado (Brune; Patrignani, 2015). Nesse contexto, a combinação com produtos naturais surge como uma estratégia promissora para potencializar os efeitos terapêuticos, reduzir as doses necessárias e, potencialmente, minimizar eventos adversos. O fato de vários estudos incluídos demonstrarem que as associações

superaram os efeitos observados com cada agente administrado isoladamente reforça a hipótese de interações benéficas, possivelmente mediadas por mecanismos complementares ou sinérgicos.

Esse padrão observado na literatura dialoga diretamente com os achados prospectivos em documentos patentários. O predomínio de terpenos e terpenoides entre os compostos naturais mais investigados, associado à recorrência dos AINEs como principais fármacos sintéticos utilizados, indica não apenas uma tendência experimental consolidada, mas também uma direção de interesse tecnológico. Em outras palavras, os mesmos grupos de substâncias que se destacam nos estudos pré-clínicos também tendem a compor formulações, composições farmacêuticas e reivindicações de uso presentes em patentes, sugerindo alinhamento entre a geração de conhecimento científico e a proteção da inovação. Essa convergência é particularmente relevante, pois indica que a combinação entre terpenos e AINEs não tem sido vista apenas como uma hipótese farmacológica, mas como uma plataforma com potencial translacional e aplicabilidade terapêutica.

Além disso, o diálogo entre os resultados experimentais e os documentos patentários fortalece a interpretação de que os terpenos representam uma classe estratégica para o desenvolvimento de adjuvantes farmacológicos. A recorrência desses compostos nas patentes pode refletir atributos valorizados do ponto de vista tecnológico, como versatilidade química, possibilidade de incorporação em sistemas de liberação, associação com diferentes fármacos e potencial para originar formulações inovadoras. Assim, a coincidência entre o que é mais investigado na literatura e o que é mais protegido no campo patentário sugere um cenário de maturação científica e tecnológica, no qual determinadas combinações já ultrapassam o campo exploratório e passam a se posicionar como candidatas reais ao desenvolvimento de bioprodutos e formulações terapêuticas mais eficazes.

Em conjunto, esses achados sustentam que a predominância de terpenos/terpenoides e de AINEs não é aleatória, mas reflete uma convergência entre racional farmacológico, robustez experimental e interesse inovador. Essa interface entre evidência científica e prospecção tecnológica amplia a relevância dos resultados encontrados, ao demonstrar que as associações mais frequentes não apenas apresentam efeitos superiores aos agentes isolados, mas também despertam interesse para aplicação industrial e farmacêutica, consolidando seu potencial translacional.

Outro aspecto relevante envolve inovações tecnológicas baseadas em nanoestruturas, especialmente para a coentrega de produtos naturais e fármacos antitumorais. Lipossomas contendo linalol e doxorrubicina mostraram melhora significativa na eficácia antitumoral, maior acúmulo no tecido tumoral e redução da citotoxicidade sistêmica, evidenciando o papel dos nanocarregadores na otimização dos perfis farmacocinéticos e farmacodinâmicos de terapias combinadas (Wi et al., 2020). De modo geral, abordagens nanoestruturadas permitem a liberação controlada de compostos com diferentes propriedades físico-químicas, aumentando estabilidade, biodisponibilidade e seletividade tumoral (Jiang et al., 2024).

Além das estratégias com nanocarregadores, associações entre compostos bioativos naturais e fármacos antineoplásicos convencionais também demonstraram efeitos antitumorais relevantes. A combinação de oleuropeína com doxorrubicina reduziu significativamente o volume tumoral e modulou vias mitocondriais envolvidas na apoptose, como NF-κB e caspase-3, sugerindo possível redução da dose quimioterápica e menor dano oxidativo (Elamin et al., 2019). De forma semelhante, o ácido elágico combinado com sorafenibe apresentou efeito sinérgico em modelo experimental de carcinoma hepatocelular, promovendo disfunção mitocondrial seletiva, aumento de espécies reativas de oxigênio, liberação de citocromo c, ativação de caspase-3 e redução da viabilidade celular. Da mesma forma, a associação de 5-desmetilnobiletina com paclitaxel intensificou a resposta apoptótica em células de câncer de pulmão, reforçando o papel de metabólitos naturais como sensibilizadores tumorais (Tan et al., 2019). Esses achados indicam que nanoformulações e combinações farmacológicas baseadas em compostos naturais representam estratégias promissoras para melhorar eficácia, seletividade e segurança de terapias antineoplásicas.

Em relação as terapias antivirais, a baicaleína, flavonoide derivado de *Scutellaria baicalensis*, demonstrou potencial relevante quando combinada com fármacos convencionais. A associação com ribavirina apresentou efeito sinérgico contra a infecção por influenza, com maior inibição da replicação viral, redução da expressão de genes virais essenciais e atenuação da inflamação pulmonar, resultando em maior sobrevida e menor perda de peso em camundongos infectados (Chen et al., 2011).

Os resultados das patentes indicam que o uso integrado desses compostos ultrapassou o âmbito acadêmico, consolidando-se como estratégia promissora para o desenvolvimento de novos produtos, formulações avançadas e terapias mais seguras. Diversas patentes sugerem que produtos naturais podem atuar como *bioenhancers* farmacocinéticos, aumentando a biodisponibilidade e permitindo a redução de doses de fármacos de referência. Exemplo disso é a combinação de tizanidina com resveratrol e piperina, que apresenta aumento de até 100% na biodisponibilidade e redução significativa da dose terapêutica (Kalpana; Ghosalkar; Gaikwad, 2022). Essa abordagem é consistente com achados experimentais, como o uso de rutina com AINEs, em que compostos naturais protegem tecidos e modulam vias metabólicas críticas (Zapata-Morales et al., 2021).

Outra tendência importante destacada pelas patentes envolve inovações nanotecnológicas e formulações avançadas, principalmente em oncologia. A nanoemulsão de linalol para o tratamento de múltiplos tipos de câncer, isoladamente ou em combinação com agentes quimioterápicos convencionais, exemplifica essa abordagem (French, 2017), corroborando estudos experimentais que demonstraram maior eficácia do linalol associado à doxorrubicina em lipossomas (Wi et al., 2020). Formulações eutéticas contendo limoneno e ibuprofeno demonstram que terpenos podem modificar propriedades físico-químicas de fármacos, aumentando sua solubilidade e eficácia antiproliferativa,

representando avanço tecnológico com impacto direto na farmacotecnologia aplicada ao câncer (Duarte et al., 2020).

Em oncologia, as patentes também indicam que produtos naturais podem sensibilizar células tumorais ou reduzir os efeitos adversos de quimioterápicos. A combinação de quercetina com ciclofosfamida, permitindo redução de até dez vezes na dose quimioterápica com manutenção ou aumento da eficácia, exemplifica o potencial dessa estratégia para reduzir toxicidade e ampliar o espectro terapêutico (Lines, 2015). Combinações com curcumina e paclitaxel ou aspirina também relatam aumento significativo da atividade anticâncer ou anti-inflamatória, chegando a mais de cinco vezes o efeito do fármaco isolado (Jacob, 2010), em consonância com dados pré-clínicos que mostram que compostos fenólicos modulam vias mitocondriais, inflamatórias e oxidativas, contribuindo para uma ação terapêutica mais ampla (Elamin et al., 2019).

Além da oncologia, as patentes demonstram aplicações clínicas diversificadas. A combinação de berberina com ácido bempedoico apresenta efeito sinérgico na redução de LDL e triglicerídeos, com baixa hepatotoxicidade, oferecendo alternativa terapêutica relevante para dislipidemias e comprometimento hepático (Jinliang et al., 2020). Formulações tópicas combinando capsaicina e dicloridrato de histamina também representam inovação, pois reduzem o desconforto típico da capsaicina, melhorando a adesão em tratamentos de dor neuropática, artrite e prurido (Barr; Holt, 1999).

Em doenças infecciosas, a combinação de artemisinina, piperaquina e primaquina exemplifica a integração de produtos naturais em terapias racionalizadas e de baixa toxicidade. A artemisinina, derivada de *Artemisia annua*, continua sendo pilar do tratamento antimalárico, e sua combinação otimizada reduz a duração do tratamento, os efeitos adversos e a transmissão parasitária, demonstrando uma integração bem-sucedida entre conhecimento tradicional e inovação farmacêutica (Guogiao; Song, 2003).

A combinação de canabinoides sintéticos com terpenos como limoneno, linalol e pineno também tem sido explorada para a inibição da via Hedgehog, crítica na progressão de neoplasias e de doenças oculares associadas à angiogênese. O sinergismo relatado evidencia o potencial de combinar compostos naturais e sintéticos para modular vias complexas, ampliando as possibilidades terapêuticas e abrindo caminho para alternativas menos tóxicas e mais seletivas (Ringuette & Campbell, 2018).

No que se refere ao tipo de interação farmacológica, a análise integrada dos dados provenientes de artigos científicos e patentes revelou uma diferença relevante entre a literatura acadêmica e os documentos de proteção intelectual quanto à caracterização das interações entre produtos naturais e compostos sintéticos.

Nos estudos experimentais publicados, observou-se predomínio de interações sinérgicas, o que está em consonância com modelos farmacológicos clássicos de avaliação de combinações, conforme descrito na literatura (Omutindo; Nyakayo, 2025). Esses modelos demonstram que, em condições experimentais controladas, associações racionalmente delineadas podem resultar em efeitos farmacológicos superiores à soma dos efeitos individuais dos compostos avaliados. Por outro lado, nas patentes, o efeito mais frequentemente relatado foi a potencialização, caracterizada pelo aumento da eficácia ou da biodisponibilidade de um composto em decorrência da presença de outro, sem que tenha sido formalmente avaliado se os efeitos combinados excediam a soma dos efeitos isolados.

Essas diferenças podem refletir abordagens distintas: enquanto os artigos buscam demonstrar interações farmacodinâmicas quantificáveis, as patentes tendem a enfatizar benefícios técnicos ou clínicos observados, como melhora da absorção, redução de doses e ampliação da eficácia terapêutica, sem a comprovação detalhada do tipo de interação.

De forma geral, a integração entre achados experimentais e evidências patentárias torna evidente que a combinação de produtos naturais e fármacos sintéticos não apenas melhora eficácia, seletividade e segurança, mas também impulsiona a criação de plataformas tecnológicas inovadoras, incluindo nanoformulações, sistemas eutéticos, composições de liberação modificada e sinergias direcionadas a vias moleculares específicas. Assim, os resultados desta revisão demonstram que essas combinações representam uma estratégia promissora, capaz de gerar terapias mais eficazes, reduzir toxicidades e viabilizar produtos farmacêuticos tecnologicamente avançados.

5. Conclusão

A revisão sistemática demonstrou que a combinação de fármacos sintéticos e produtos naturais representa uma estratégia promissora para aumentar a eficácia terapêutica, reduzir a toxicidade e impulsionar inovações tecnológicas. De modo geral, os achados desta revisão indicam que a associação entre fármacos sintéticos e produtos naturais, especialmente terpenos, flavonoides e compostos fenólicos que, não apenas intensifica a resposta terapêutica, incluindo efeitos anti-inflamatórios e antitumorais, como também amplia o espectro de ação farmacológica. Os estudos analisados revelaram interações relevantes, frequentemente de caráter sinérgico, incluindo aumento da biodisponibilidade e potencialização das atividades anti-inflamatória, analgésica, antioxidante e anticâncer, além da possibilidade de redução das doses de medicamentos, o que pode minimizar efeitos adversos associados ao uso prolongado. As patentes complementam essas evidências ao apresentar soluções tecnológicas avançadas, como nanoformulações, sistemas eutéticos e composições direcionadas a vias moleculares específicas, reforçando o potencial dessas combinações para o desenvolvimento de terapias mais seguras, eficazes e inovadoras. No presente estudo, o termo

“sinergismo” foi considerado apenas quando os autores empregaram métodos quantitativos formais, como análise isobolográfica ou comparação entre doses efetivas teóricas e experimentais. Estudos que relataram apenas aumento de efeito foram classificados como potencialização. No entanto, ainda há necessidade de estudos clínicos robustos, bem como da padronização de doses, especialmente para combinações envolvendo terpenos e polifenóis com agentes quimioterápicos.

Limitações do presente estudo

Nesta revisão, foram analisados estudos experimentais e evidências de patentes para demonstrar o potencial de estratégias sinérgicas em farmacoterapia, especialmente por meio do uso de produtos naturais como moduladores da eficácia de fármacos sintéticos. De modo geral, essas combinações parecem oferecer efeitos terapêuticos confiáveis com menor incidência de eventos adversos, sugerindo seu potencial como candidatos a tratamentos de primeira linha no futuro. No entanto, várias limitações foram identificadas no conjunto de pesquisas atuais, indicando que são necessários mais estudos para confirmar os efeitos moduladores e os mecanismos subjacentes. Os achados desta revisão são baseados em dados extraídos da literatura disponível e podem não refletir completamente os resultados na prática clínica. Consequentemente, as abordagens terapêuticas discutidas devem ser aplicadas com cautela em contextos clínicos. Pesquisas futuras devem priorizar ensaios clínicos randomizados, multicêntricos, duplo-cegos e em grande escala para validar a eficácia e a segurança dessas estratégias sinérgicas.

Referências

K. M. Anjali, A. Raghav, A. S. Chauhan, P. Kumar, *Natural terpenes: An overview of structural diversity and multifunctional applications,* **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. (2026) http://doi.org/10.7324/JAPS.2026.274026

A. Salimi, M. Saboji, E. Seydi**,** *Synergistic effects of ellagic acid and sorafenib on hepatocytes and mitochondria isolated from a hepatocellular carcinoma rat model*, **Nutrition and Cancer**. (2021) https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1869281

A.M. Castañeda, C.M. Meléndez, D. Uribe, J. Pedroza-Díaz, *Synergistic effects of natural compounds and conventional chemotherapeutic agents: Recent insights for the development of cancer treatment strategies*, **Heliyon**. (2022). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09519

A.P.L. Nunes, H.H.N. de Andrade, D.N. Alves, G.R. Araújo, M.G.S.S. Salvadori, R.N. de Almeida, R.D. de Castro**,** *Orofacial antinociceptive activity of codeine-associated geraniol in mice: a controlled triple-blind study*, **Brazilian Oral Research**. (2024). https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2024.vol38.0071

C. Martins-Gomes, A.M. Silva, *Natural products as a tool to modulate the activity and expression of multidrug resistance proteins of intestinal barrier*, **Journal of Xenobiotics**. (2023). https://doi.org/10.3390/jox13020014

C. Tabolacci, C. Forni, R.N. Jadeja, F. Facchiano, *Natural compounds against cancer, inflammation, and oxidative stress*, **BioMed Research International**. (2019). https://doi.org/10.1155/2019/9495628

C.R. Hooijmans, M.M. Rovers, R.B.M. de Vries, M. Leenaars, M. Ritskes-Hoitinga, M.W. Langendam, *SYRCLE's risk of bias tool for animal studies*, **BMC Medical Research Methodology**. (2014). https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43.

E.S. Wisniewski-Rebecca, B.A. Rocha, L.A.M. Wiirzler, R.K.N. Cuman, C.A. Velazquez-Martinez, C.A. Bersani-Amado**,** *Synergistic effects of anethole and ibuprofen in acute inflammatory response*, **Chemico-Biological Interactions**. (2015). https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.10.013

G. Dai, B. Li, Y. Xu, Z. Li, F. Mo, C. Wei**,** *Synergistic interaction between matrine and paracetamol in the acetic acid writhing test in mice*, **European Journal of Pharmacology**. (2021) https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.173869

GE, Jiamin; LIU, Yan; LI, Qian; GUO, Xia; LIU, Wen; LI, Rong; YU, Shun; ZHANG, Xue; YANG, Feng; LI, Pei. *Natural terpenoids with anti-inflammatory activities: Potential leads for anti-inflammatory drug discovery*. **Bioorganic Chemistry** (2022). https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105817

G. Li, J. Song, *Composition containing artemisinin for treatment of malaria*, **US7851512B2**. (2010).

I. Mikkili, J.K. Suluvoy, J.J. Thathapudi, K. Srirama, *Synergistic strategies for cancer treatment: leveraging natural products, drug repurposing and molecular targets for integrated therapy*, **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**. (2024). https://doi.org/10.1186/s43088-024-00556-z

J. Bai, S. Zhao, X. Fan, Y. Chen, X. Zou, M. Hu, B. Wang, J. Jin, X. Wang, J. Hu, *Inhibitory effects of flavonoids on P-glycoprotein in vitro and in vivo: Food/herb-drug interactions and structure–activity relationships*, **Toxicology and Applied Pharmacology**. (2019). https://doi.org/10.1016/j.taap.2019.02.010

J. Jinliang, B. Bai, X. Xing, Z. Zhang, *Pharmaceutical composition containing berberine and application thereof*, **CN113133997A**, China. (2020)

J. Kalpana, J. Ghosalkar, D. Gaikwad, Pharmaceutical combination formulations comprising tizanidine, resveratrol and piperine, **EP3946267A1**, published: 23/06/2022.

J. Xie, V.Y. Strauss, D. Martinez-Laguna, C. Carbonell-Abella, A. Diez-Perez, X. Nogues, G.S. Collins, S. Khalid, A. Delmestri, A. Turkiewicz, *Association of tramadol vs codeine prescription dispensation with mortality and other adverse clinical outcomes*, JAMA. (2021) 326, 1504–1515. https://doi.org/10.1001/jama.2021.14745

J.C. McCrae, S. Morrison, C. MacIntyre, J. Dear, I. Webb**,** *Long-term adverse effects of paracetamol – a review*, **British Journal of Clinical Pharmacology**. (2018). https://doi.org/10.1111/bcp.13656

J.M. Al-Khayri, G.R. Sahana, P. Nagella, B.V. Joseph, F.M. Alessa, M.Q. Al-Mssallem, Flavonoids as potential anti-inflammatory molecules: A review**, Molecules**. (2022) 27, 2901. https://doi.org/10.3390/molecules27102901

J.M. Lines, *Method for treating cancer with a combination of quercetin and a chemotherapy agent*, **WO2015196036A1**, WIPO (PCT). (2015). Priority to 19/06/2014; Published 23/12/2015.

J.M.M.D.S. Duarte, C.V. Pereira, L.A.A. Rodrigues, R.L.G. Reis, A.B.D.A. Paiva, A.A.F. Matias, A.R. Cruz, *Terpene based therapeutic deep eutectic system, method of obtaining and uses thereof*, **WO2020188547A1**, WIPO (PCT). (2020).

J.N. Jacob, *Formulations from derivatives of curcumin, paclitaxel, and aspirin*, **US9012411B2.** (2015).

J.P. Higgins, D.G. Altman, P.C. Gøtzsche, P. Jüni, D. Moher, A.D. Oxman, J. Savović, K.F. Schulz, L. Weeks, J.A.C. Sterne**,** *The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials*, **BMJ**. (2011). https://doi.org/10.1136/bmj.d5928

J.R. Zapata-Morales, A.J. Alonso-Castro, G.S. Muñoz-Martínez, M.M. Martínez-Rodríguez, M.E. Nambo-Arcos, L.M. Brennan-Bourdon, O.H. Aragón-Martínez, J.F. Martínez-Morales**,** *In vitro and in vivo synergistic interactions of the flavonoid rutin with paracetamol and with non-steroidal anti-inflammatory drugs*, **Archives of Medical Research**. (2021). https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2021.03.007

J.V. Espinosa-Juárez, J. Arrieta, A. Briones-Aranda, L. Cruz-Antonio, Y. López-Lorenzo, M.E. Sánchez-Mendoza, *Synergistic Antinociceptive Effect of β-Caryophyllene Oxide in Combination with Paracetamol, and the Corresponding Gastroprotective Activity*, **Biomedicines**. (2024). https://doi.org/10.3390/biomedicines12051037

K.L. French, *Linalool nanoparticles, and composition for preventing or treating cancer, containing same*, **WO2017073877A1**, WIPO (PCT). (2017). Published: 28/10/2015.

K. Brune, P. Patrignani, *New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs*, **Journal of Pain Research**. (2015). https://doi.org/10.2147/JPR.S75160

K.-T. Tan, S. Li, Y.R. Li, S.-L. Cheng, S.-H. Lin, Y.-T. Tung**,** *Synergistic anticancer effect of a combination of paclitaxel and 5-demethylnobiletin against lung cancer cell line in vitro and in vivo*, **Applied Biochemistry and Biotechnology**. (2019). https://doi.org/10.1007/s12010-018-2869-1

L. Chen, J. Dou, Z. Su, H. Zhou, H. Wang, W. Zhou, Q. Guo, C. Zhou**,** *Synergistic activity of baicalein with ribavirin against influenza A (H1N1) virus infections in cell culture and in mice*, **Antiviral Research**. (2011). https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.07.008

M. Arfeen, A. Srivastava, N. Srivastava, R.A. Khan, S.A. Almahmoud, H.A. Mohammed, *Design, classification, and adverse effects of NSAIDs: A review on recent advancements*, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. (2024) 112, 117899. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2024.117899

M. Wink, M.L. Ashour, M.Z. El-Readi, *Secondary metabolites from plants inhibiting ABC transporters and reversing resistance of cancer cells and microbes to cytotoxic and antimicrobial agents*, **Frontiers in Microbiology**. (2012). https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00130

M.A. Ashraf, M. Riaz, M.S. Arif, R. Rasheed, M. Iqbal, I. Hussain, M.S. Mubarik, *The role of non-enzymatic antioxidants in improving abiotic stress tolerance in plants*, in: *Plant Tolerance to Environmental Stress*, **CRC Press** (2019). https://doi.org/10.1016/B978-0-443-14139-3.00022-1

M.H. Elamin, A.B. Elmahi, M.H. Daghestani, E.M. Al-Olayan, R.A. Al-Ajmi, A.F. Alkhuriji, S.S. Hamed, M.F. Elkhadragy**,** *Synergistic anti-breast-cancer effects of combined treatment with oleuropein and doxorubicin in vivo*, **Alternative Therapies in Health and Medicine**. (2019).

M.I. Ortiz, M.P. González-García, H.A. Ponce-Monter, G. Castañeda-Hernández, P. Aguilar-*Robles***,** *Synergistic effect of the interaction between naproxen and citral on inflammation in rats*, **Phytomedicine.** (2010). https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.05.009

M.I. Ortiz, R. Cariño-Cortés, H.A. Ponce-Monter, G. Castañeda-Hernández, A.E. Chávez-Piña**,** *Pharmacological interaction of α-bisabolol and diclofenac on nociception, inflammation, and gastric integrity in rats*, **Drug Development Research.** (2018). https://doi.org/10.1002/ddr.21418

Omutindo Nyakayo A., *The Synergistic Effects of Combination Therapies: Medicinal Plants and Pharmaceuticals*, **Newport International Journal of Public Health and Pharmacy** 6(1): 1-8 (2025). https://doi.org/10.59298/NIJPP/2025/611800

P. Bharathiraja, P. Yadav, A. Sajid, S.V. Ambudkar, N.R. Prasad, *Natural medicinal compounds target signal transduction pathways to overcome ABC drug efflux transporter-mediated multidrug resistance in cancer*, **Drug Resistance Updates**. (2023).https://doi.org/10.1016/j.drup.2023.101004

R. Ringuette, C. Campbell, *Compositions comprising cannabinoids and terpenes useful in the treatment of cancer and vascular ocular disorders via inhibition of hedgehog signalling*, **WO2018205038A1**, WIPO (PCT). (2018).

R. Sohail, M. Mathew, K.K. Patel, S.A. Reddy, Z. Haider, M. Naria, A. Habib, Z.U. Abdin, W.R. Chaudhry, A. Akbar, *Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and gastroprotective NSAIDs on the gastrointestinal tract: a narrative review*, **Cureus**. (2023). https://doi.org/10.7759/cureus.XXXX

R.A. Oliveira, *Novas estratégias terapêuticas para o tratamento da artrite reumatoide: uma análise através de documentos de patentes*, Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Rio de Janeiro, 2020.

S. Gagare, P. Patil, A. Jain, *Natural product-inspired strategies towards the discovery of novel bioactive molecules*, **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**. (2024). https://doi.org/10.1186/s43094-024-00627-z

S. Karnam, U. Jagtap, A.B. Jindal, A.T. Paul, *Evaluation of synergistic anti-inflammatory activity of selected natural products in combination with teriflunomide in LPS stimulated RAW 264.7 cells for rheumatoid arthritis treatment*, **South African Journal of Botany**. (2025). https://doi.org/10.1016/j.sajb.2025.06.008

T.I. Wi, J.E. Won, C.M. Lee, J.-W. Lee, T.H. Kang, B.C. Shin, H.D. Han, Y.-M. Park**,** *Efficacy of combination therapy with linalool and doxorubicin encapsulated by liposomes as a two-in-one hybrid carrier system for epithelial ovarian carcinoma*, **International Journal of Nanomedicine**. (2020). https://doi.org/10.2147/IJN.S272319

T.L. Barr, S.D. Holt, *Pain reliever and method of use*, **US6197823B1**. (2001).

V. Claassen**,** *Neglected factors in pharmacology and neuroscience research: biopharmaceutics, animal characteristics, maintenance, testing conditions*, **Elsevier**, 2013.

Y. Jiang, C. Yan, M. Li, S. Chen, Z. Chen, L. Yang, K. Luo, *Delivery of natural products via polysaccharide-based nanocarriers for cancer therapy: A review on recent advances and future challenges*, **International Journal of Biological Macromolecules**. (2024) 278, 135072. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135072

CAPÍTULO II: **Alívio da dor aprimorado: Efeitos do ibuprofeno e do linalol com complexação em Hidroxipropil-*β*-Ciclodextrina em modelos murinos**

Revista: European Journal of Pharmaceutical Sciences | **IF:** 4.7 | **Situação:** Submetido

Isabel Sousa Alcântara[a]; Gleidson Cardoso[b]; Lucas Yure Santos da Silva [a]; Renata Torres Pessoa[a]; Aparecida Barros da Silva[a]; Eduardo dos Santos Silva[a]; Thayna Moraes Clementino[a]; Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins[a]; Stephânia Fleury Taveira [b]; Ricardo Neves Marreto[b*]; Irwin Rose Alencar de Menezes[a*]

[a] Laboratório de Farmacologia e Química Molecular, Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri, Rua Coronel Antônio Luís, nº 1161, Crato, 63105-000, CE, Brasil.

[b] Laboratório de Nanosistemas e Dispositivos de Liberação de Fármacos (NanoSYS), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Rua 240, Setor Universitário Leste, Goiânia, GO, 74605-170, Brasil.

*Corresponding author: Alcântara, IS (isabel.alcantara@urca.br); Menezes, IRA (Irwin.alencar@urca.br)

Resumo

A associação de produtos naturais e medicamentos convencionais pode potencializar a eficácia terapêutica e reduzir os efeitos colaterais no tratamento da dor. Este estudo avaliou o efeito antinociceptivo da combinação entre ibuprofeno (IBU) e linalol (LIN), bem como as propriedades analgésicas de seus complexos com hidroxipropil-*β*-ciclodextrina (HP*β*CD) em camundongos. Os complexos foram preparados por ultrassonicação em diferentes razões molares fármaco:CD (1:1, 2:1 e 4:1) e caracterizados por métodos físico-químicos, térmicos, difratométricos e espectroscópicos. Ensaios de solubilidade e estudos de liberação *in vitro* determinaram a eficiência de encapsulamento. Nos ensaios *in vivo*, os efeitos das substâncias no sistema nervoso central (SNC) foram analisados por meio dos testes de campo aberto e rota-rod. A resposta nociceptiva aguda foi avaliada pelos modelos de formalina e contorções abdominais, enquanto a hiperalgesia crônica foi induzida pelo Adjuvante Completo de Freund (CFA) e analisada pelo método de Von Frey. Os resultados mostraram que os complexos 2:1 e 1:1 de LIN e IBU com HP*β*CD apresentaram maior solubilidade em água em relação aos fármacos puros, sendo a razão 1:1 a mais solúvel, enquanto, o LIN demonstrou liberação mais rápida no complexo 1:1. Os testes comportamentais indicaram que as coadministrações não alteraram significativamente o SNC ou a atividade motora. Nos testes de dor,

IBU+LIN e seus complexos reduziram significativamente a hiperalgesia em todos os modelos avaliados. O complexo 2:1 apresentou melhor biodisponibilidade e eficácia terapêutica superior às substâncias isoladas na hiperalgesia crônica. Desta forma, a complexação em ciclodextrina proporcionou uma melhor otimização da liberação dos compostos, permitindo a redução da dose mantendo a eficácia que podem contribuir minimizando efeitos adversos, tornando o tratamento mais seguro e eficaz, especialmente em casos de dor crônica que exigem administração contínua de fármacos.

Palavras-chave: Linalol; ibuprofeno; nocicepção; Associação farmacológica; Hidroxipropil-*β*-Ciclodextrina.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA — Análise de Variância
ATR — Reflectância Total Atenuada
BCS — Sistema de Classificação Biofarmacêutica
CB1/CB2 – Receptores canabinoides tipo 1 e tipo 2
CD — Ciclodextrina
CFA — Adjuvante Completo de Freund
COX – Ciclooxigenase
DSC — Calorimetria Diferencial de Varredura
FTIR — Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
HPβCD — Hidroxipropil-β-ciclodextrina
IBU — ibuprofeno
IBU:HPβCD — Complexo de ibuprofeno com hidroxipropil-β-ciclodextrina
IL-1β – Interleucina 1 beta
IL-6 – Interleucina 6
LD — Limite de detecção
LIN — Linalol
LIN:HPβCD — Complexo de linalol com hidroxipropil-β-ciclodextrina
LQ — Limite de quantificação
PM — Mistura física
PPARγ – Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama
RVC — Concentrador a vácuo rotativo (modelo RVC 2-33)
SNC — Sistema Nervoso Central

TNF-α – Fator de Necrose Tumoral alfa

UV/Vis — Espectrofotometria no ultravioleta/visível

XRD — Difração de Raios X

1. Introdução

Estudos indicam que a associação entre compostos naturais e fármacos convencionais pode resultar em efeitos analgésicos superiores aos obtidos com monoterapia (Kumar et al., 2020; Xie et al., 2020). Os efeitos sinérgicos dessas combinações associados a sistemas de liberação de fármacos baseados em complexos de hidroxipropil-*β*-ciclodextrina oferecem uma estratégia promissora para o desenvolvimento de tratamentos de alívio da dor mais eficazes com redução significativa das doses terapêuticas (Allawadhi et al., 2022; Trotta et al., 2022).

O linalol (LIN) $C_{10}H_{18}O$, 3,7-dimetil-1,6-octadieno-3-ol é um álcool monoterpeno derivado de plantas aromáticas. Ele é um componente importante nos óleos essenciais de espécies como *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Coriandrum sativum* e *Origanum vulgare* (Moussi et al., 2020; Nawaz et al., 2023). Além de ser reconhecido por suas características aromáticas, o linalol tem sido estudado por suas propriedades farmacológicas, que incluem efeitos antifúngicos (Biernasiuk; Malm, 2023), antioxidantes (Duarte et al., 2016), anti-inflamatórios (Huo et al., 2013) e antinociceptivos (Quintans-Júnior et al., 2013). Embora o linalol se destaque entre as substâncias promissoras para o desenvolvimento de terapias analgésicas, uma grande parte dos estudos pré-clínicos que descrevem seus efeitos biológicos utiliza doses significativamente altas deste composto, o que tem se mostrado um fator limitante no desenvolvimento de terapias a partir de produtos naturais (Ames et al., 2020).

O ibuprofeno (IBU) é um anti-inflamatório não esteroidal frequentemente prescrito na prática clínica para o tratamento da inflamação, da dor e da febre (Jan-Roblero; Cruz-Maya, 2023). Ele é classificado como um fármaco da classe II pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS), exibindo baixa solubilidade em água de 21,61 µg/mL (Amirinejad et al., 2023). A farmacocinética do ibuprofeno e do linalol é frequentemente limitada por desafios relacionados à solubilidade e estabilidade, particularmente no caso do linalol, devido à sua volatilidade (Kitak et al., 2015; Raguso, 2016). Uma solução para essas limitações é a incorporação dos fármacos em sistemas de liberação controlada, que visam melhorar a bioatividade das substâncias (Becktel et al., 2022).

A complexação de ciclodextrinas com fármacos anti-inflamatórios (Allawadhi et al., 2022; Bayir, 2005; Jadhav; Vavia, 2021) tem sido descrita como uma estratégia eficaz para melhorar a solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade dos medicamentos (Liu et al., 2024; Miranda et al., 2021). Diversos estudos sobre a melhoria da solubilidade em água do IBU foram conduzidos,

incluindo os que relatam a encapsulação com HPβCD (Amirinejad et al., 2023; Loftsson et al., 1993; Mura et al., 1998; Ssengooba et al., 2022). Além de melhorar as propriedades biofarmacêuticas, a encapsulação com ciclodextrinas pode mitigar os efeitos gastrointestinais do IBU (Amirinejad et al., 2023). O linalol também foi complexado com ciclodextrinas para reduzir a perda por evaporação e efeitos biológicos indesejáveis, como irritação na pele, tosse e dor (Paiva-Santos et al., 2022; Rodríguez-Lópes et al., 2020). Além disso, alguns estudos relatam melhorias nas propriedades farmacêuticas do linalol e um aumento em seus efeitos biológicos quando incluído nas cavidades de βCD e HPβCD, conforme revisado por Suvarna & Chippa (2023).

O presente estudo avaliou o efeito antinociceptivo combinado de LIN e IBU, tanto isolados e como complexados em HPβCD. Para isso, foram obtidos complexos sólidos por sonicação em diferentes razões molares e caracterizados utilizando métodos térmicos, difratométricos e espectroscópicos. Além disso, buscou-se correlacionar esses resultados com os efeitos observados para o linalol (LIN) e o ibuprofeno (IBU) e sua associação isolada e complexada em modelos *in vivo* de formalina, contorções abdominais e hiperalgesia mecânica induzida por Adjuvante Completo de Freund (CFA), como objetivo de estabelecer uma relação entre a liberação dos compostos e sua eficácia no efeito antinociceptivo observado.

2. Materiais e métodos

2.1 Reagentes e Padrões

O (±)linalol (≥97%; L2602-Sigma-Aldrich) , ibuprofeno (≥98%; I4883-Sigma-Aldrich), Adjuvante Completo de Freund (344289-Sigma-Aldrich), formalina e ácido acético foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EUA). A hidroxipropil-β-ciclodextrina foi fornecida pela Ashland (W7 HP7 PHARMA, lote A1411A0050, 1520 da substituição molar 1,03 conforme estimado por 1H NMR, grau de substituição 7,21).

2.2 Quantificação dos ativos

LIN e IBU foram quantificados por espectrofotometria UV/Vis (Thermo Scientific Genesys 50, Waltham, Massachusetts, EUA) em 204 e 220 nm, respectivamente. O método foi validado de acordo com as diretrizes da International Conference on Harmonization. Uma curva analítica foi construída na faixa de 1 a 20 μg/mL (y = 0,0228x + 0,0834, r = 0,9917 para LIN e y = 0,0419x + 0,0451, r = 0,9969 para IBU). Os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) para a quantificação de LIN foram de 0,9 e 0,3 μg/mL, respectivamente. Para a determinação de IBU, os valores de LQ e LD foram de 0,7 e 0,2 μg/mL, respectivamente. A seletividade foi investigada, não sendo observada interferência da HPβCD. Os experimentos foram realizados em triplicata.

2.3 Estudos de solubilidade

A solubilidade do IBU puro foi avaliada pela adição de uma quantidade excessiva do fármaco em tubos de vidro com tampa de rosca contendo 2 mL de água ultrapura. Cada frasco (n=3) foi agitado (250 rpm) por 72 h a 25 °C em um agitador orbital SL-233 (Solab, São Paulo, Brasil). Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 6.000 rpm por 15 minutos e filtradas através de um filtro de membrana PVDF de 0,45 µm (Millex®, Millipore Corporation, Darmstadt, Alemanha), e o teor do fármaco foi determinado por espectroscopia UV/Vis. A solubilidade do LIN em água purificada foi determinada utilizando o mesmo procedimento.

2.4 Complexos de inclusão

Os complexos sólidos de LIN e IBU com HPβCD (respectivamente LIN:HPβ e IBU:HPβ) foram obtidos por evaporação do solvente. Quantidades apropriadas de LIN ou IBU e HPβCD foram dispersas em uma solução hidroetanólica a 60% (v/v) para obter complexos com razões molares ativo:ciclodextrina de 1:1, 2:1 e 4:1. Cada dispersão foi inicialmente agitada magneticamente (IKA RT15, IKA-Werke GmbH & Co, Staufen, Alemanha) a 300 rpm por 10 minutos à temperatura ambiente, seguida por ultrassonicação em um disruptor ultrassônico modelo QR 550 W (Ultronique, São Paulo, Brasil), equipado com uma microponteira (4 mm), operando a 33% de potência. A sonicação foi realizada em três ciclos de 5 minutos cada (com intervalos de 30 segundos), resultando em soluções claras. Em seguida, as soluções foram submetidas a uma etapa de concentração a vácuo em um dispositivo de concentração RVC 2-33 (Martin Christ, Osterode, Alemanha), mantido a 25 ± 0,5 °C. A evaporação do solvente ocorreu sob pressão reduzida por 72 horas.

Misturas físicas (PM) também foram preparadas colocando-se os constituintes individuais em tubos de ensaio na mesma razão molar utilizada para os complexos obtidos por solvente. Os tubos foram selados e submetidos à agitação em vórtex por 2 minutos. O teor de LIN e IBU nos complexos sólidos e nas misturas físicas foi avaliado dissolvendo-se uma massa adequada dos complexos em etanol absoluto, seguido de diluição no mesmo solvente e análise espectrofotométrica.

2.5 Solubilidade de LIN e IBU a partir dos complexos de inclusão

Excesso dos complexos sólidos LIN:HPβ e IBU:HPβ (razões molares 1:1, 2:1 e 4:1) foram adicionados a tubos de vidro com tampa de rosca contendo 2 mL de água ultrapura. Cada frasco (n=3) foi agitado (250 rpm) por 72 h a 25 °C em um agitador orbital SL-233 (Solab, São Paulo, Brasil). Em

seguida, as amostras foram centrifugadas a 6.000 rpm por 15 minutos, e o teor de LIN e IBU foi determinado espectrofotometricamente, conforme descrito anteriormente.

2.6 Caracterização dos complexos de inclusão

Os constituintes individuais, misturas físicas e complexos sólidos foram analisados. A análise de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) foi realizada em um analisador térmico simultâneo Jupiter® STA 449 F3 (NETZSCH-Feinmahltechni, Selb, Alemanha) sob uma atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL/min) de 35 °C a 400 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram registrados (n=3) utilizando um espectrômetro Bruker Vertex 70 (Bruker ASX Inc. Madison, EUA) com o modelo de reflectância total atenuada (ATR) em uma faixa de 4000-400 cm-1. Os espectros obtidos foram manipulados utilizando o software OriginPro® 8.5 (Origin Lab, Northampton, EUA). Medições de difração de raios X (XRD) foram realizadas em um difratômetro Bruker D8 Discover, utilizando radiação monocromática de um tubo com ânodo de cobre acoplado a um monocromador Johansson para Kα1, operando a 40kV e 40mA, configuração Bragg-Brentano θ-2θ, detector unidimensional Lynxeye®, faixa de 2θ de 2º a 50º, com um passo de 0,01º. As amostras foram mantidas em rotação a 15 rpm durante a medição.

2.7 Liberação in vitro de fármacos a partir de complexos de inclusão

Os estudos de liberação foram realizados utilizando células de difusão do tipo Franz fornecidas pela Unividros Ltda (Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil). Uma membrana de diálise de celulose regenerada com um limite de corte de peso molecular de 1 kDa foi colocada entre as câmaras doadora e receptora. Os complexos LIN:HPβ e IBU:HPβ (com razões molares ativo:HPβCD de 1:1 e 2:1) foram dispersos em água purificada para alcançar uma concentração final de 6,4 mg/mL de fármaco. As suspensões foram então adicionadas à câmara doadora (1 g). A câmara receptora foi preenchida com 14 mL de solução hidroalcoólica a 60% (v/v), mantida sob agitação a 300 rpm e 37 °C (n=4). Em intervalos apropriados (30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos), 1 mL do meio receptor foi retirado e imediatamente substituído por um volume igual de meio fresco. A quantidade liberada foi determinada por espectrofotometria. A cinética de liberação do fármaco foi analisada aplicando-se as equações de ordem zero (Eq. (1)) e de Higuchi (Eq. (2)).

$$F = F_0 + k_0 t \qquad (1)$$

$$F = k_H t^{1/2} \qquad (2)$$

Onde F representa a fração do fármaco liberada ao longo do tempo t, F_0 é a quantidade inicial de fármaco nos complexos, e K_0 and K_H são as constantes aparentes de taxa para os modelos de ordem zero e de Higuchi, respectivamente.

2.8 Ensaios *in vivo*

2.8.1 Animais

Os camundongos Swiss (*Mus musculus*), de ambos os sexos, com massa corporal variando entre 20 e 30 g, mantidos em condições ambientais controladas, com temperatura de 23 ± 2 °C e ciclo claro/escuro de 12 h. Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos em conformidade com as diretrizes éticas para o uso de animais em pesquisa e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Regional do Cariri (CEUA/URCA, protocolo nº 00247/2023-1).

2.8.2 Estimativa das doses testadas

A seleção das doses para este estudo envolveu uma busca na literatura para determinar as doses eficazes de LIN e IBU em camundongos. As doses eficazes utilizadas neste estudo correspondem a um terço das doses médias encontradas na literatura para IBU (dose média calculada—185 mg/kg, com intervalo de 140 a 200 mg/kg) e LIN (dose média calculada—32,5 mg/kg, com intervalo de 25 a 40 mg/kg). Assim, as doses selecionadas foram estabelecidas como 10,8 mg/kg para LIN (redução de aproximadamente 66,8%) e 62 mg/kg para IBU (redução de aproximadamente 66,5%) em comparação com as doses médias encontradas na literatura (Souto-maior et al., 2017; Zhou et al., 2019).

Todos os testes *in vivo* foram realizados por via oral, utilizando uma sonda de gavagem apropriada para camundongos, com ponta arredondada, a fim de garantir a administração segura e precisa das formulações. Para todos os tratamentos, foi utilizado um volume de dose de 0,1 mL/10 g de peso corporal. As seguintes formulações foram administradas: grupo controle recebendo água destilada (0,1 mL/10 g/via oral); IBU livre (62 mg/kg); LIN livre (10,8 mg/kg); combinação de IBU + LIN livres (62 + 10,8 mg/kg); complexo IBU:HPβ (1:1) (62 mg/kg); complexo LIN:HPβ (1:1) (10,8 mg/kg); combinação de IBU:HPβ (1:1) (62 mg/kg) + LIN:HPβ (1:1) (10,8 mg/kg); complexo IBU:HPβ (2:1) (62 mg/kg); complexo LIN:HPβ (2:1) (10,8 mg/kg); e combinação de IBU:HPβ (2:1) (62 mg/kg) + LIN:HPβ (2:1) (10,8 mg/kg).

2.8.3 Efeito de LIN, IBU, LIN:HP-β, IBU:HP-β e suas combinações no sistema nervoso central

2.8.3.1 Campo aberto

Os camundongos *Swiss* (n = 6) foram tratados e, após 1 hora, foram colocados individualmente em um campo aberto por 5 minutos. Durante esse período, foram registrados a exploração horizontal (número de cruzamentos), os comportamentos de higiene (autolimpeza) e a exploração vertical (*rearing*) dos animais (Archer, 1973).

2.8.3.2 Rota rod

Os camundongos *Swiss* (n = 6) foram selecionados e passaram por um pré-treinamento de até 3 sessões de 1 minuto cada, 24 horas antes do tratamento. Após a divisão dos animais em grupos, eles foram submetidos ao tratamento e, 1 hora depois, foram colocados no rotarod por 1 minuto (16 rpm). O número de quedas foi então registrado (Dunham; Miya, 1957).

2.8.4 Efeito antinociceptivo de LIN, IBU, LIN:HPβ, IBU:HPβ e suas combinações

2.8.4.1 Contorções abdominais induzidas por ácido acético

Os camundongos *Swiss* (n = 6) foram tratados conforme os grupos designados. Uma hora após o tratamento, os animais receberam ácido acético glacial PA (0,6%/0,1 mL/10 g) por via intraperitoneal, diluído em água para injeção. Após a administração do ácido acético, os animais foram colocados individualmente sob funis de vidro transparente por 30 minutos. Durante esse período, o número de contrações abdominais foi quantificado e caracterizado por contração abdominal e rotação, seguida pela extensão de uma ou ambas as patas traseiras (Koster; Anderson; De Beer, 1959).

2.8.4.2 Teste de formalina (2.5%)

Os camundongos *Swiss* (n = 6) foram tratados conforme descrito. Após 1 hora, os animais receberam uma injeção de 20 μL de formalina (2,5%) na pata traseira direita (espaço subplantar) e foram colocados individualmente sob um funil de vidro invertido. O tempo (em segundos) gasto lambendo, continuando a lamber ou mordendo a pata injetada ("tempo de lambedura") durante a primeira fase, atribuída à fase neurogênica (0–5 min), foi registrado, assim como a segunda fase, caracterizada como a fase inflamatória (15–30 min) (Tjolsen et al., 1992).

2.8.4.3 Teste de hiperalgesia induzida por Adjuvante Completo de Freund

Os camundongos *Swiss* (n = 6) foram submetidos à estimulação mecânica na pata traseira direita, 24 horas e 30 minutos antes do teste (medição basal). Após esse período, os animais receberam CFA (p/v) (20 μL/pata) na pata traseira direita. Em seguida, os animais foram tratados conforme os grupos estabelecidos. Para o teste, os animais foram colocados individualmente em recipientes de acrílico, apoiados sobre uma superfície elevada e cobertos com uma tela de arame. Após a aclimatação, estímulos foram aplicados com um aestesiômetro de filamento *Von Frey*, utilizando uma força constante na superfície plantar da pata traseira direita, por um período de 21 dias consecutivos. Os tratamentos foram administrados no 5º, 9º, 13º, 17º e 21º dias. A força (em g) foi registrada com base na retirada da pata do filamento (Martinov et al., 2013; Tena et al., 2012).

2.9 Expressão de dados e análise estatística

Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (EPM), avaliados por análise de variância (ANOVA) com modelo de efeitos mistos, seguida de teste pós-hoc *Tukey*, *Sidak*, *Bonferroni* ou *Dunnett*. Os cálculos foram realizados utilizando o software GraphPad Prism (versão 8.0), com base nos valores obtidos dos testes. Para todas as análises, $p < 0,05$ foi considerado significativo.

3. Resultados e discussão

3.1 Preparação dos complexos

O presente estudo determinou os efeitos antinociceptivos combinados de LIN e IBU *in vivo*. A HPβCD foi empregada para a complexação do IBU e do LIN por apresentar elevada solubilidade em água, melhor perfil de segurança via oral e formação de complexos mais solúveis e biodisponíveis, favorecendo a liberação intestinal dos fármacos, a redução da dose efetiva e o menor risco de efeitos adversos quando comparada à β-ciclodextrina (Lima et al., 2016; Carneiro et al., 2019). Para isso, e considerando as propriedades físico-químicas limitadas desses compostos (LIN e IBU), foi preparado complexos de inclusão com ciclodextrina, uma estratégia descrita na literatura como útil em otimizar propriedades biofarmacêuticas e o efeito anti-inflamatório de fármacos. Rodríguez-López et al. (2020) relataram a preparação de complexos sólidos de LIN com HP*β*CD em diferentes valores de pH por ultrassonicação e irradiação por micro-ondas. Esses autores demonstraram que as condições neutras favoreceram a complexação do LIN na cavidade do HP*β*CD e relataram que a ultrassonicação promoveu uma maior desagregação das gotas de LIN em comparação com a irradiação por micro-ondas. Em conformidade, foram preparados complexos de LIN: ciclodextrina (razões molares de 4:1,

2:1 e 1:1) em água destilada usando ultrassonicação. As soluções resultantes apresentaram pH neutro (6,47 a 7,00) e mostraram uma recuperação de LIN de 82,9%, 94,1% e 101,7%, respectivamente, para as razões molares de 4:1, 2:1 e 1:1.

Para preparar os complexos sólidos de IBU:HPβ, também foi utilizado condições de complexação relatadas como eficazes para a preparação da razão molar 1:1 (Amirinejad et al. 2023). O protocolo resultou em soluções claras (pH 4,29-4,56) que foram com sucesso secas sob pressão reduzida. A recuperação do IBU foi de 80,7%, 74,7% e 95,6%, respectivamente, para as razões molares 4:1, 2:1 e 1:1.

Uma das principais limitações da complexação de fármaco:ciclodextrina é o aumento do volume da formulação de medicamentos com baixa eficiência de complexação (Kurkov & Loftsson, 2013). Ao estudar os efeitos da razão molar fármaco: ciclodextrina nas propriedades físico-químicas do fármaco, o objetivo é reduzir a quantidade de ciclodextrina na formulação. Essa redução poderia resolver o problema do aumento do volume da formulação e melhorar as propriedades biofarmacêuticas, uma vez que o excesso de ciclodextrina também pode prejudicar a absorção e a biodisponibilidade do fármaco (Kurkov & Loftsson, 2013). Portanto, foram preparados complexos com três diferentes razões molares fármaco: ciclodextrina, oferecendo um caminho promissor para o futuro.

3.2 Caracterização dos complexos de inclusão

A Figura 1 (a) mostra as curvas de TG do LIN puro, HPβCD, seus complexos e as misturas físicas correspondentes (PMs). Pode-se observar que o LIN puro perde massa em uma única etapa, o que segue (Kou et al., 2024). A perda de massa do LIN teve um Tonset de 120,8 °C. A Fig. 1 (a) também mostra os efeitos do aumento da concentração de LIN nas PMs e complexos de ciclodextrina. A PM preparada na proporção molar de 4:1 (fármaco:ciclodextrina) apresentou uma perda de massa evidente, com Tonset a 79,1 °C, sugerindo a alta quantidade de LIN livre nesta amostra. A Fig. 1 (b) apresenta as mesmas curvas de TG, destacando o intervalo entre 150 e 300 °C para melhor discriminar o comportamento térmico das PMs e complexos. Todas as PMs apresentaram perdas de massa maiores antes de 200-220 °C do que os complexos correspondentes, sugerindo uma maior complexação de LIN nos últimos. Além disso, apenas os complexos mostraram um claro evento de perda de massa entre 225 e 250 °C, dependente da proporção molar de fármaco: ciclodextrina. Esse evento nos complexos também indicou maior retenção de LIN nessas amostras, especialmente no complexo 1:1.

O material suplementar **(Fig. 1S)** apresenta as curvas de DSC dos complexos de LIN. As curvas de DSC refletem as curvas de TG, confirmando a ausência de um evento endotérmico em torno de 220 °C nas PMs, uma característica observada nas curvas de DSC de todos os complexos. É

importante notar que a curva de DSC da PM 4:1 exibe um endotérmico significativo (Tpeak 64,8 °C), provavelmente associado à perda de LIN.

Os materiais puros, complexos e as PMs correspondentes foram submetidos à análise espectroscópica para entender as interações entre LIN e a ciclodextrina. A Fig. 1 (c) mostra os espectros de FTIR. O espectro do LIN apresenta uma banda de estiramento associada aos grupos -OH a 3395 cm-1, enquanto o HP*β*CD apresenta sua banda de estiramento -OH a 3360 cm-1. Uma comparação entre os complexos preparados sob diferentes razões molares e suas PMs correspondentes mostra as bandas de estiramento -OH convergindo para 3360 cm-1; no entanto, é importante notar que todas as amostras de PM exibiram essa vibração ocorrendo a um número maior, o que pode ser sugerido como resultado de uma maior quantidade de LIN não complexo nessas amostras. Por fim, a Fig. 1 (d) mostra os difratogramas das amostras de LIN. Como já esperado, nenhum pico de difração foi observado devido à natureza amorfa do HP*β*CD (De oliveira nonato et al., 2023) e ao estado físico líquido do LIN. Todas as amostras apresentaram um padrão característico de materiais amorfos. Em conclusão, os achados de TG, DSC e FTIR são significativos, pois fornecem evidências das interações LIN-ciclodextrina e seu impacto nas propriedades térmicas e espectroscópicas. Nesse sentido, observamos que o complexo na razão molar 1:1 foi o que apresentou o melhor desempenho global de complexação.

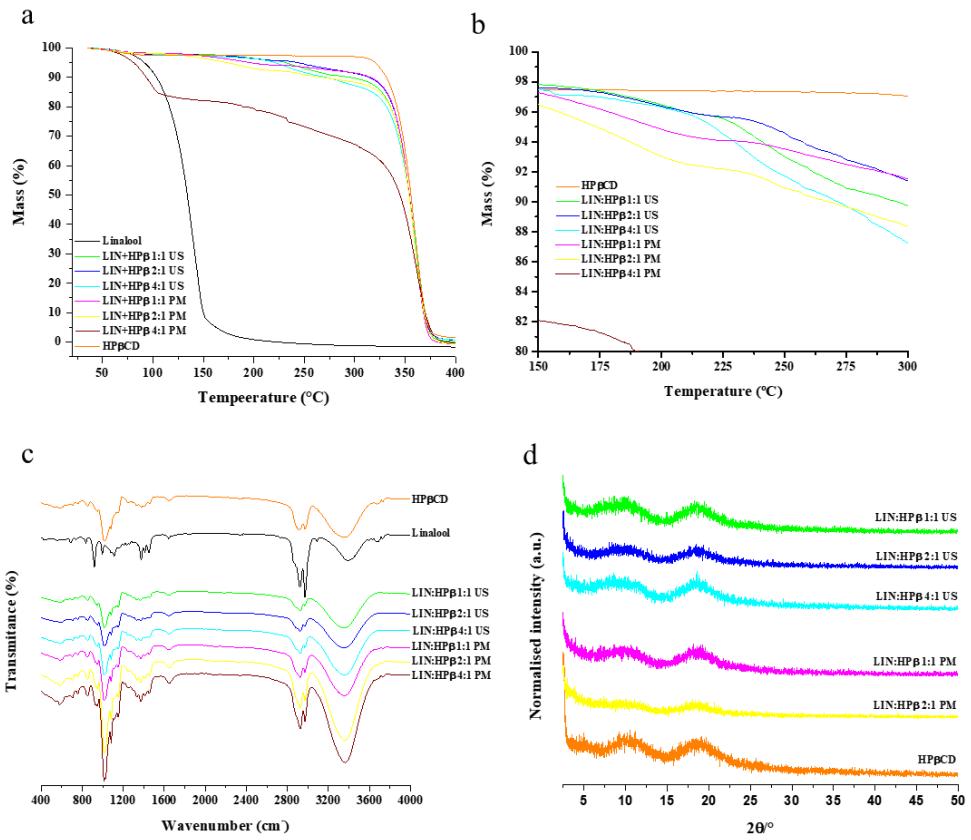


Figura 1. Caracterizações térmica, espectroscópica e difratométrica dos complexos de linalol-hidroxipropil-β-ciclodextrina (US) e misturas físicas (PM). (a) e (b) Curvas de TG; (c) Espectros de FTIR; (d) Gráficos de DRX.

A caracterização térmica, espectroscópica e difratométrica dos complexos de IBU e suas correspondentes misturas físicas (PMs) é apresentada na Fig. 2. (a) curva de TG do IBU puro (Fig. 2a) mostrou uma única etapa de perda de massa com Tonset em 201,7 °C. Por sua vez, as curvas de TG das PMs e dos complexos mostraram uma perda de massa percentual variável entre 150 e 300 °C, o que refletiu as diferentes quantidades de IBU nessas amostras. Os valores de Tonset do primeiro evento de perda de massa nessas curvas foram semelhantes para todas as amostras, denotando a manutenção da estabilidade química do IBU em todas as amostras.

As curvas de DSC do IBU puro mostraram um pico endotérmico estreito a 79,1 °C relacionado ao seu ponto de fusão (115 Jg^{-1}), o que está de acordo com Amirinejad et al. (2023). Também pode ser observada uma ocorrência endotérmica a 226,9 °C, relacionada à degradação do IBU. A curva de DSC do HPβCD puro apresentou um evento endotérmico a 359,7 °C, relacionado à sua degradação química.

Por sua vez, as curvas de DSC revelaram diferenças significativas entre os PMs e os complexos. Pode-se observar que o evento de fusão do IBU estava ausente apenas no complexo com a relação molar 1:1. O pico de fusão ainda podia ser visto na curva de DSC do complexo 2:1, mas com uma diminuição em sua entalpia de fusão (8,07 Jg^{-1}) em comparação com o PM correspondente (16,94 Jg^{-1}). Nenhum pico endotérmico do IBU foi observado a 226,9 °C em qualquer amostra IBU: HPβ, provavelmente devido ao efeito de diluição. Esses resultados mostram claramente o efeito da relação molar e do método de preparação no sucesso da complexação do IBU com HPβCD.

Por sua vez, as curvas de DSC revelaram diferenças significativas entre os PMs e os complexos. Pode-se observar que o evento de fusão do IBU estava ausente apenas no complexo com a relação molar 1:1. O pico de fusão ainda podia ser visto na curva de DSC do complexo 2:1, mas com uma diminuição em sua entalpia de fusão (8,07 Jg^{-1}) em comparação com o PM correspondente (16,94 Jg^{-1}). Nenhum pico endotérmico do IBU foi observado a 226,9 °C em qualquer amostra IBU: HPβ, provavelmente devido ao efeito de diluição. Esses resultados mostram claramente o efeito da relação molar e do método de preparação no sucesso da complexação do IBU com HPβCD.

Neste estudo, a XRD foi a análise de estado sólido mais discriminante para determinar a complexação de IBU: HPβ. O difratograma do IBU puro (Fig. 2d) revelou os picos de difração típicos do fármaco em 6,22, 16,87, 17,00, 19,63, 20,33, 22,51º 2Θ. Os difratogramas de todos os PMs e do complexo preparado com a relação molar 4:1 de IBU: HPβ mostraram alguns picos cristalinos de IBU em 6,22, 16,87, 17,00, 20,33, 22,51º 2Θ. No entanto, o complexo 2:1 mostrou apenas dois picos de difração em 6,22 e 16,87º 2Θ com intensidade muito baixa, sugerindo uma diminuição significativa da estrutura cristalina do fármaco. Por fim, o complexo 1:1 apresentou um padrão típico de materiais amorfos. Dessa forma, os complexos 1:1 e 2:1 demonstram grande potencial para melhorar as propriedades farmacêuticas do IBU, aprimorando assim sua ação anti-inflamatória.

Corroborando com os resultados anteriores, também observamos que o complexo IBU:HPβCD na razão molar 1:1 preparado por ultrassonicação (US) apresenta o melhor conjunto de evidências de complexação.

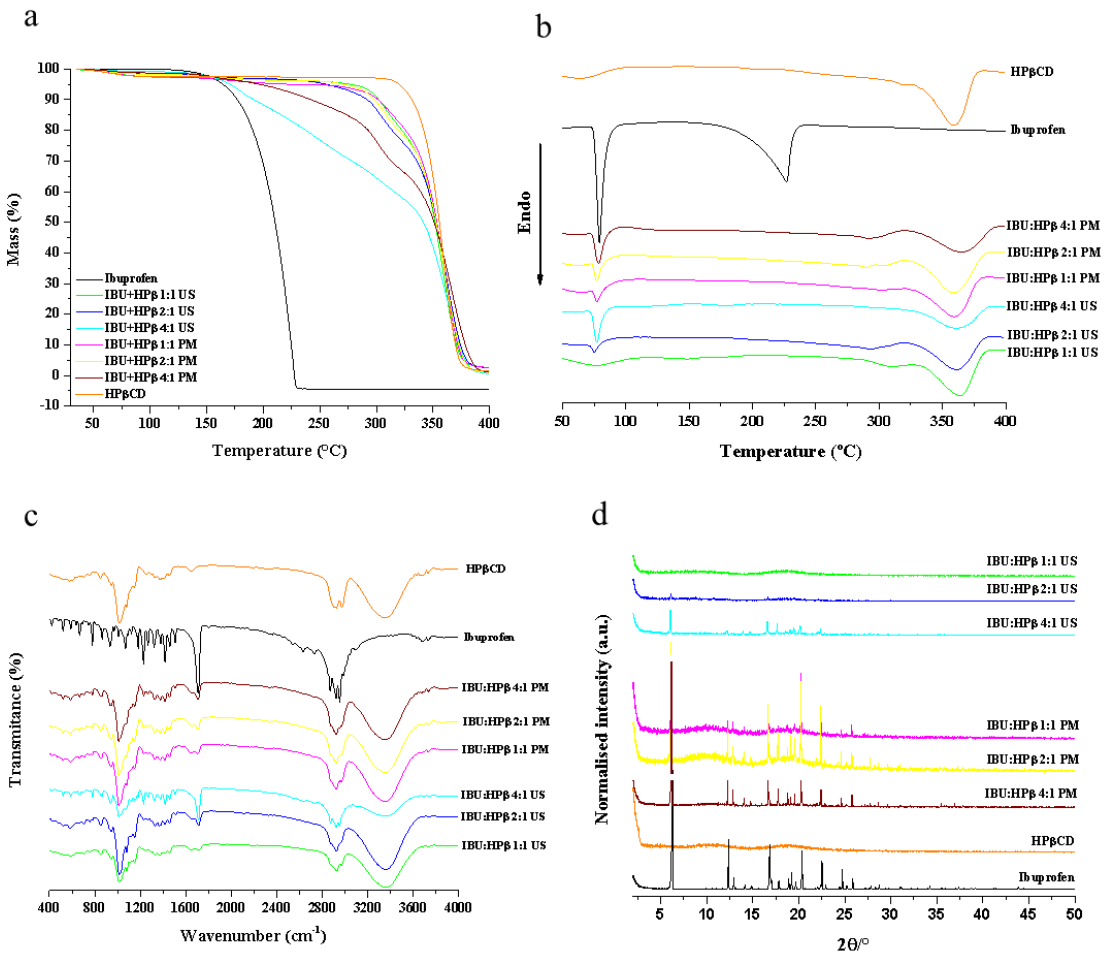


Figura 2. Caracterizações térmica, espectroscópica e difratométrica dos complexos de ibuprofeno-hidroxipropil-β-ciclodextrina (US) e misturas físicas (PM). (a) Curvas de TG; (b) Curvas de DSC; (c) Espectros de FTIR; (d) Gráficos de DRX.

3.3 Estudo de solubilidade

A Fig. 3 mostra a solubilidade em água do LIN puro (Fig. 3a) e do IBU (Fig. 3b) e seus complexos com ciclodextrina. Em ambos os casos, os complexos preparados nas proporções molares 2:1 e 1:1 de fármaco: ciclodextrina apresentaram maior solubilidade do que o fármaco puro ($p < 0,05$); a solubilidade do fármaco na proporção molar 1:1 foi significativamente maior do que na proporção molar 2:1 ($p < 0,05$), o que está de acordo com a literatura que relata que a estequiometria dos complexos LIN: HPβ e IBU: HPβ é 1:1 (Amirinejad et al., 2023; Rodríguez-López et al., 2020). Por outro lado, o complexo na proporção molar 4:1 não resultou em nenhuma melhoria de solubilidade em comparação aos fármacos puros, dessa forma optou-se por retirar dos ensaios posteriores ($p > 0,05$). Portanto, o complexo IBU:HPβCD na razão molar 1:1 apresentou a maior

solubilidade em água, seguido por 2:1 e, por último, 4:1. Enquanto o linalol, o padrão observado foi 1:1 > 2:1 > 4:1.

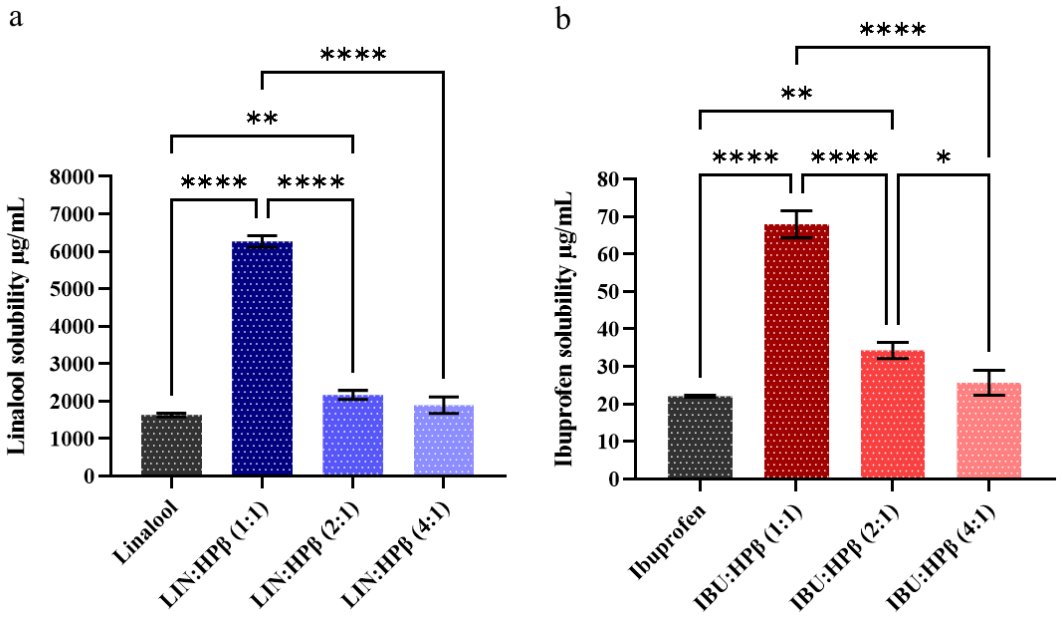


Figura 3. Solubilidade em água de linalol e ibuprofeno a partir dos complexos com HPβCD. ANOVA de uma via seguida pelo teste de *Tukey* (*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001, comparado com o grupo controle).

3.4 Liberação in vitro de LIN e IBU a partir de misturas físicas e complexos com HPβCD

A liberação do medicamento foi determinada apenas para os complexos com razão molar 1:1 e 2:1, com base nos dados de solubilidade. A Figura 4 mostra os perfis de liberação do medicamento para LIN (Fig. 4a) e IBU (Fig. 4b). As curvas de liberação para as amostras de IBU (complexos 1:1 e 2:1) estavam sobrepostas durante todo o intervalo estudado, enquanto uma diferença significativa foi observada nas amostras de LIN, com uma liberação mais rápida do medicamento no início do experimento e um percentual de liberação significativamente maior no final para o complexo 1:1.

A Tabela 1 mostra o percentual de liberação do medicamento após 4 horas do experimento e o fluxo calculado utilizando o modelo cinético mais adequado (modelo de Higuchi). Não houve diferenças entre os valores de fluxo calculados para os complexos 1:1 e 2:1 ($p > 0,05$) para ambos os medicamentos. É importante observar que o fluxo calculado para as amostras de LIN é estatisticamente semelhante, pois ocorreu uma liberação em "explosão" nos primeiros 20 minutos do experimento para o complexo 1:1, o que não foi computado para o cálculo do fluxo.

Os resultados sugerem que as diferenças na solubilidade do IBU (Figura 3) entre os complexos 1:1 e 2:1 não se manifestaram nos estudos de liberação *in vitro*, o que pode indicar a possibilidade de usar uma concentração menor de ciclodextrina. Por outro lado, as diferenças para o LIN foram

confirmadas nos estudos de liberação. No entanto, é importante ressaltar que experimentos *in vivo* são necessários para avaliar completamente os efeitos biológicos da concentração de ciclodextrina quando os complexos de LIN e IBU são administrados isoladamente ou em combinação, tornando-se o próximo passo crucial em nossa pesquisa. Desta forma, observamos que o complexo 1:1 é claramente superior, tanto em quantidade liberada quanto em comportamento cinético previsível, não há diferença relevante (p > 0,05) entre 1:1 e 2:1, nem em percentual liberado nem no ajuste cinético.

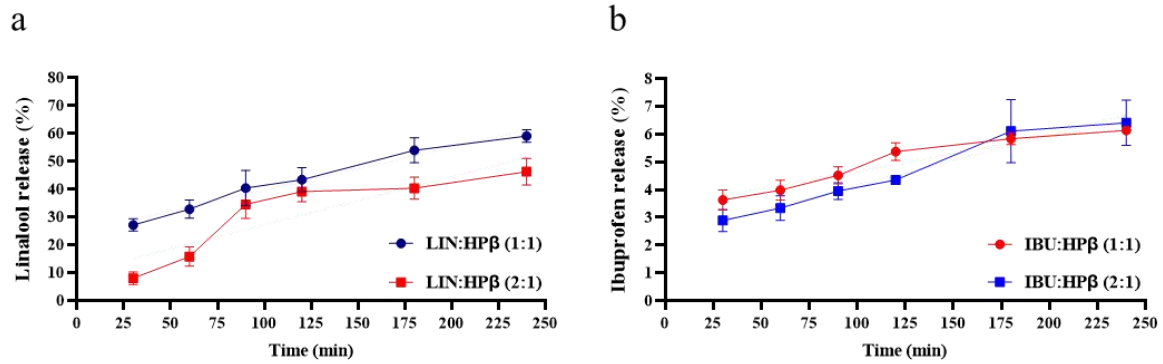


Figura 4. Liberação *in vitro* de linalol e ibuprofeno a partir de complexos de ciclodextrina preparados nas proporções molares 1:1 e 2:1 droga: ciclodextrina. (a) Curvas de linalol; (b) Curvas de ibuprofeno.

Tabela 1. Percentual de liberação do fármaco, fluxo e coeficiente de correlação do modelo cinético mais adequado (modelo de Higuchi).

Formulação	% droga liberada em 4h (SD[a])	*J*(µg/cm^2/h) 4h (SD[a])	r[b] 4h
LIN:HP*β* 1:1	59.0 (2.3)	262.8 (53.2)[c]	0.9944
LIN:HPβ 2:1	46.2 (4.8)	291.0 (38.4)[c]	0.8789
IBU:HPβ 1:1	6.1 (0.1)	126.1 (12.5)[d]	0.9709
IBU:HPβ 2:1	6.4 (0.8)	139.1 (18.9)[d]	0.9800

[a] SD desvio padão.
[b] Coeficiente de correlação linear de 4h de experimento calculada pela curva cinética de Higuchi.
[c, d] Sem diferenças significativas entre as formulações ($p > 0.05$).

3.5 Ensaios in vivo

3.5.1 Efeito de LIN, IBU, LIN:HPβ, IBU:HPβ e suas associações sobre o sistema nervoso central

Os resultados os tratamentos não demonstraram efeitos sedativos ou alteração da coordenação motora dos animais em comparação com o grupo controle negativo no teste de rota rod. Além disso, o número de quedas e o tempo gasto na barra pelos animais tratados foram semelhantes aos do grupo controle negativo. Em relação ao teste de campo aberto, os tratamentos não afetaram os parâmetros comportamentais avaliados. Assim, esses resultados sugerem que a combinação de ambos os agentes

não promoveu alterações depressoras ou excitatórias relevantes sobre a atividade do sistema nervoso central.

3.5.2 Contorções abdominais induzidos por ácido acético

Os resultados para IBU, LIN e IBU+LIN reduziram significativamente o número de contorções em 40,5%, 26,4% e 56,7%, respectivamente (Fig. 5 a). IBU:HPβ (1:1), LIN:HPβ (1:1) e complexos combinados (IBU:HPβ +LIN:HPβ, razão molar 1:1) reduziram as contorções em 49,85%, 37,7% e 75,1%, respectivamente (Fig. 5 b). IBU:HPβ (2:1), LIN:HPβ (2:1) e complexos combinados (IBU: HPβ+LIN:HPβ, razão molar 2:1) reduziram as contorções em 43,6%, 31,7% e 70%, respectivamente (Fig. 5 c), em comparação com o grupo controle

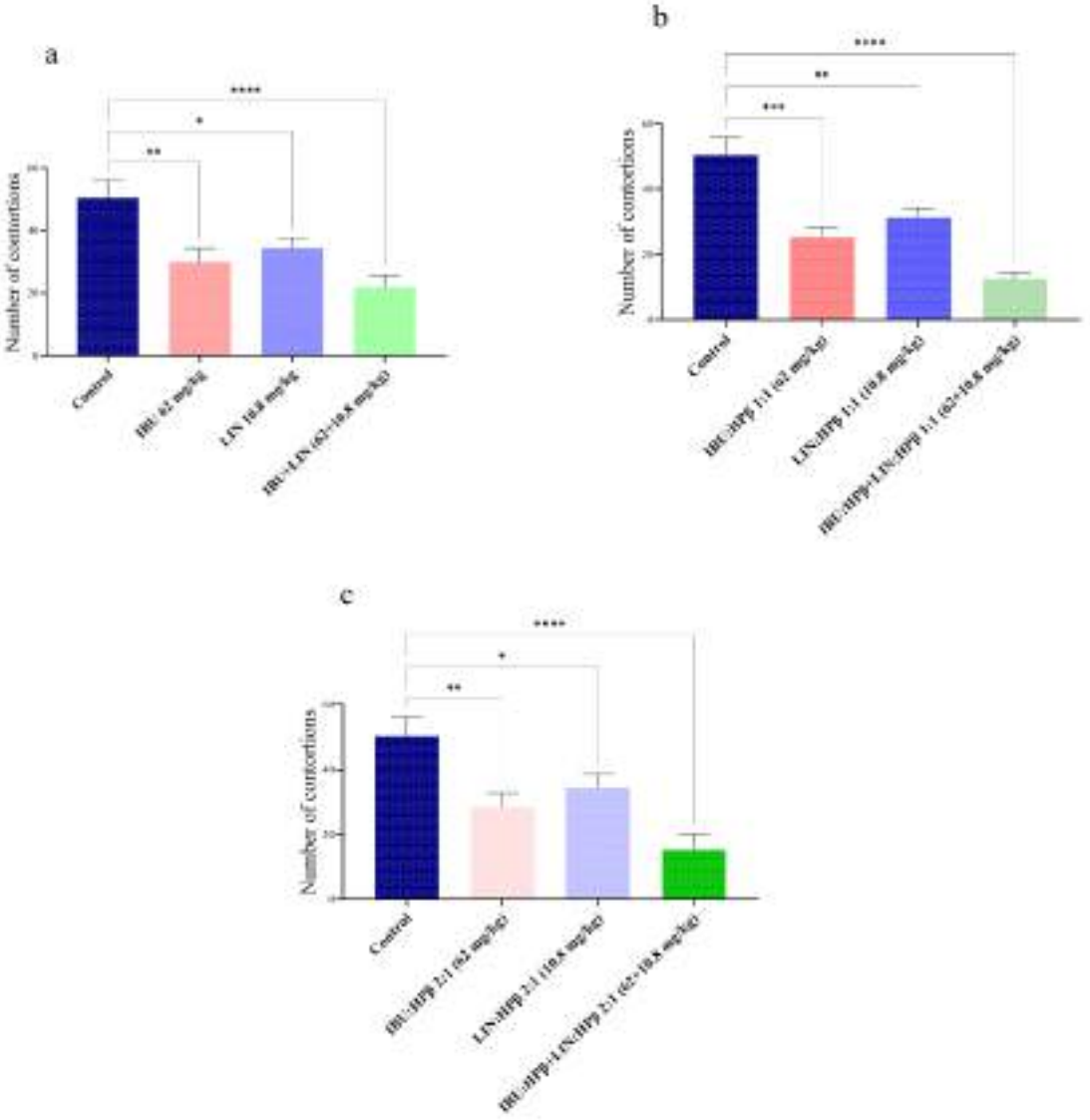


Figura 5. Efeito de IBU, LIN, LIN+IBU (a), IBU:HP*β* (1:1 e 2:1); LIN:HP*β* (1:1 e 2:1); IBU:HPβ+LIN: HP*β* (1:1 e 2:1) (b e c) no número de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Os valores mostram a média aritmética ± E.M.M (erro padrão da média) para um grupo de seis animais. ANOVA com modelo de efeitos mistos, seguida de teste pós-hoc de *Tukey* (**p*<0,05; ***p*<0,01; ****p*<0,001; ****p<0,0001, comparado com o grupo controle).

Os resultados deste modelo revelaram uma inibição promissora da resposta nociceptiva entre LIN, IBU e seus complexos em HP*β*. O efeito inibitório exercido pelos grupos tratados com a combinação foi superior ao obtido com IBU, LIN ou seus complexos administrados individualmente. No entanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos com a combinação dos isolados e os complexos combinados na avaliação do número de contorções abdominais. Neste modelo de contorções abdominais, o ácido induz uma resposta inflamatória aguda, incluindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias e mediadores como óxido nítrico, prostaglandinas e TNF-α (Pujanon; Phumsuay; Wongsawat, 2016).

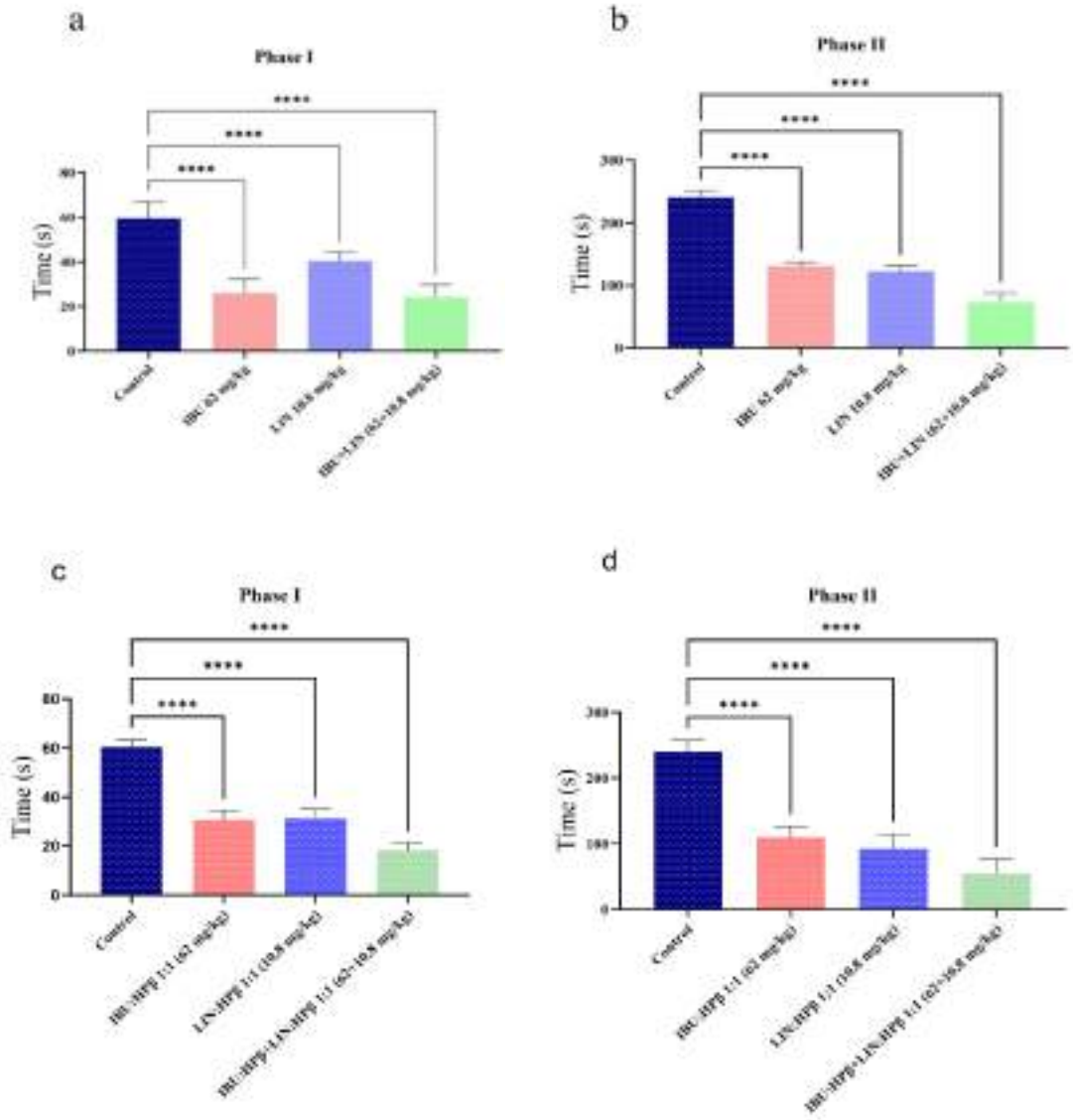
Os mecanismos de ação individuais de LIN e IBU foram previamente descritos. De acordo com Batista et al. (2010), o pré-tratamento com LIN em camundongos suíços nas doses de 50 e 200 mg/kg reduziu mediadores inflamatórios como TNF-α e óxido nítrico (NO). A diminuição dos níveis de TNF-α e NO é significativa, pois o TNF-α está ligado ao aumento da expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais, enquanto o NO ativa o NF-κB (fator nuclear kappa B), levando à maior produção de mediadores inflamatórios envolvidos no recrutamento de leucócitos (Maguire; Bethea; Kerr, 2021; Van Dervort et al., 1994). Por outro lado, o IBU, um anti-inflamatório não esteroidal tradicional, também exerce um efeito anti-nociceptivo. Yimam et al. (2012) observaram esse efeito em um modelo de contorções abdominais com uma dose de 100 mg/kg.

Neste estudo, as doses de LIN e IBU administradas foram consideravelmente mais baixas do que as utilizadas em estudos anteriores, sugerindo que a combinação dos dois compostos pode ter agido por vias diferentes, resultando em uma redução significativa no número de contorções abdominais.

3.5.3 Teste de formalina 2,5%

Na primeira fase (neurogênica/0–5 min), IBU, LIN e IBU+LIN reduziram significativamente o tempo de lambedura da pata injetada com formalina em 56,01%, 31,93% e 59,10%, respectivamente (Fig. 6 a); IBU:HP*β* (1:1), LIN:HP*β* (1:1) e os complexos combinados (IBU:HP*β*+LIN:HP*β*, razão molar 1:1) reduziram em 49,3%, 47,9% e 69,4%, respectivamente (Fig. 6 c); os tratamentos com IBU:HP*β* (2:1), LIN:HP*β* (2:1) e complexos combinados (IBU:HP*β*+LIN:HP*β*, razão molar 2:1) reduziram em 42,9%, 31,9% e 63,5%, respectivamente, quando comparados ao controle (Fig. 6 e).

Na segunda fase (inflamatória/0-15 min), IBU, LIN e IBU+LIN reduziram consideravelmente o tempo de lambedura da pata em 45,5%, 49,0% e 69,6%, respectivamente (Fig. 6 b); IBU:HPβ (1:1), LIN:HPβ (1:1) e os complexos combinados (IBU:HPβ +LIN:HPβ, razão molar 1:1) reduziram em 54,7%, 61,5% e 77,2%, respectivamente (Fig. 6 d); enquanto IBU:HPβ (2:1), LIN:HPβ (2:1) e os complexos combinados (IBU:HPβ+LIN:HPβ, razão molar 2:1) reduziram em 58,5%, 57,7% e 74,1%, respectivamente, quando comparados ao controle (Fig. 6 f).



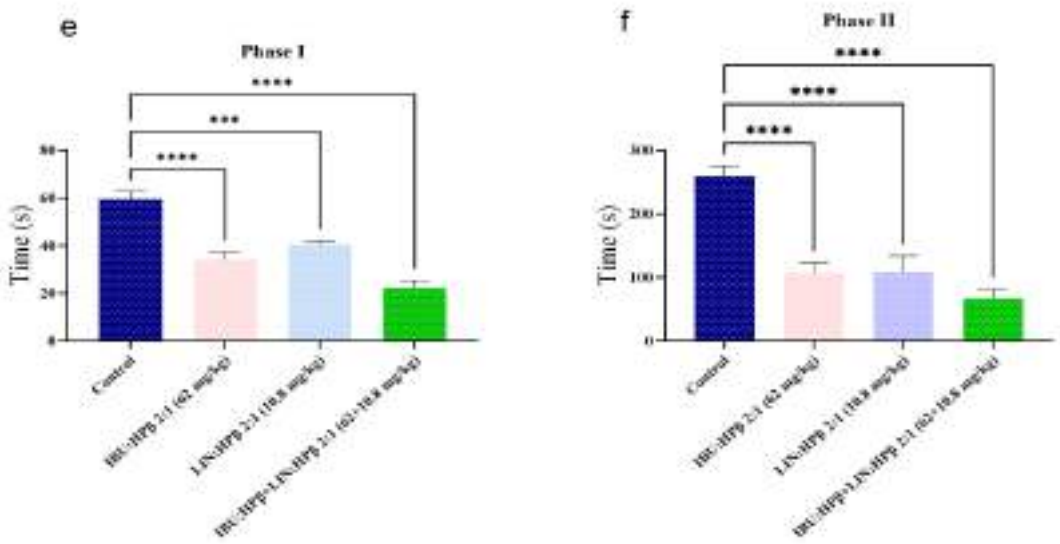


Figura 6. Efeito de IBU, LIN, LIN+IBU, IBU:HP*β* (1:1 e 2:1); LIN:HP*β* (1:1 e 2:1); IBU:HP*β*+LIN:HP*β* (1:1 e 2:1) no tempo de lambedura da pata no teste de formalina em camundongos. Primeira fase (**a, c, e**); segunda fase (**b, d, f**). Os valores representam a média aritmética ± E.P.M. (erro padrão da média) para um grupo de seis animais. ANOVA com modelo de efeitos mistos, seguida de teste pós-hoc de *Tukey* (**p*<0,05; ***p*<0,01; ****p*<0,001; *****p*<0,0001, comparado ao grupo controle).

Os resultados indicaram que não houve diferença significativa nas fases I e II do teste de formalina entre os grupos isolados, complexos e suas combinações, confirmando assim o efeito antinociceptivo. No entanto, em termos percentuais, ao comparar os tratamentos isolados com a coadministração, os grupos IBU+LIN e IBU:HP*β*+LIN:HP*β* (1:1 e 2:1) apresentaram uma melhoria no efeito.

Na fase I do teste de formalina, a dor neurogênica é causada pela estimulação direta dos nociceptores (Sawynok; Liu, 2003). A fase II é caracterizada pela inflamação, envolvendo tanto mecanismos inflamatórios quanto sensibilização central no corno dorsal da medula espinhal (Fischer et al., 2014). Os resultados observados neste estudo sugerem que as combinações de IBU+LIN e IBU: HP*β*+LIN:HP*β* (1:1 e 2:1) provavelmente são eficazes na redução da dor por meio de mecanismos periféricos e centrais. Embora o ibuprofeno não seja classicamente indicado para o tratamento da dor neuropática, os efeitos observados nesses modelos podem ser atribuídos à modulação de componentes inflamatórios periféricos, decorrentes da liberação de citocinas como TNF-α, IL-1β e IL-6. Além disso, o fármaco exerce efeitos periféricos e centrais relacionados à sensibilização nervosa, ao reduzir a excitabilidade de fibras nociceptivas associada ao aumento de prostaglandinas no sistema nervoso, contribuindo para a atenuação da sensibilização nociceptiva (Cosgrove et al., 2021).

O ibuprofeno exerce efeitos analgésicos centrais principalmente por meio da inibição da síntese de prostaglandinas via enzimas ciclooxigenases (COX) no sistema nervoso central (Le et al., 2018). Além desse mecanismo clássico, o fármaco modula o processamento nociceptivo por vias

adicionais, incluindo a prevenção de alterações conformacionais em canais iônicos sensíveis ao ácido, a ativação do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (PPARγ) e a modulação de sinais neuroinflamatórios centrais (Cosgrove et al., 2021). Evidências também indicam que o ibuprofeno pode interagir com receptores canabinoides (CB1/CB2) no sistema nervoso central, contribuindo para a atenuação da transmissão da dor central (Topuz et al., 2020).

A análise integrada dos resultados obtidos com os compostos isolados (fases I e II), com os complexos de inclusão na razão 1:1 e 2:1 evidencia um achado farmacológico relevante. Embora todos os tratamentos tenham apresentado efeito antinociceptivo estatisticamente significativo em relação ao controle, mesmo com a utilização da mesma dose nos tratamentos individuais e nas associações, a otimização da resposta analgésica na combinação indica que a interação entre os compostos não comprometeu a eficácia terapêutica. Esse aspecto é particularmente importante, uma vez que, associações farmacológicas podem resultar em interações desfavoráveis, como o antagonismo farmacodinâmico, no qual um fármaco reduz ou neutraliza o efeito do outro (Khonsary, 2023). No presente estudo, a ausência de antagonismo sugere que os mecanismos de ação envolvidos são compatíveis ou complementares, atuando de forma convergente na modulação da nocicepção.

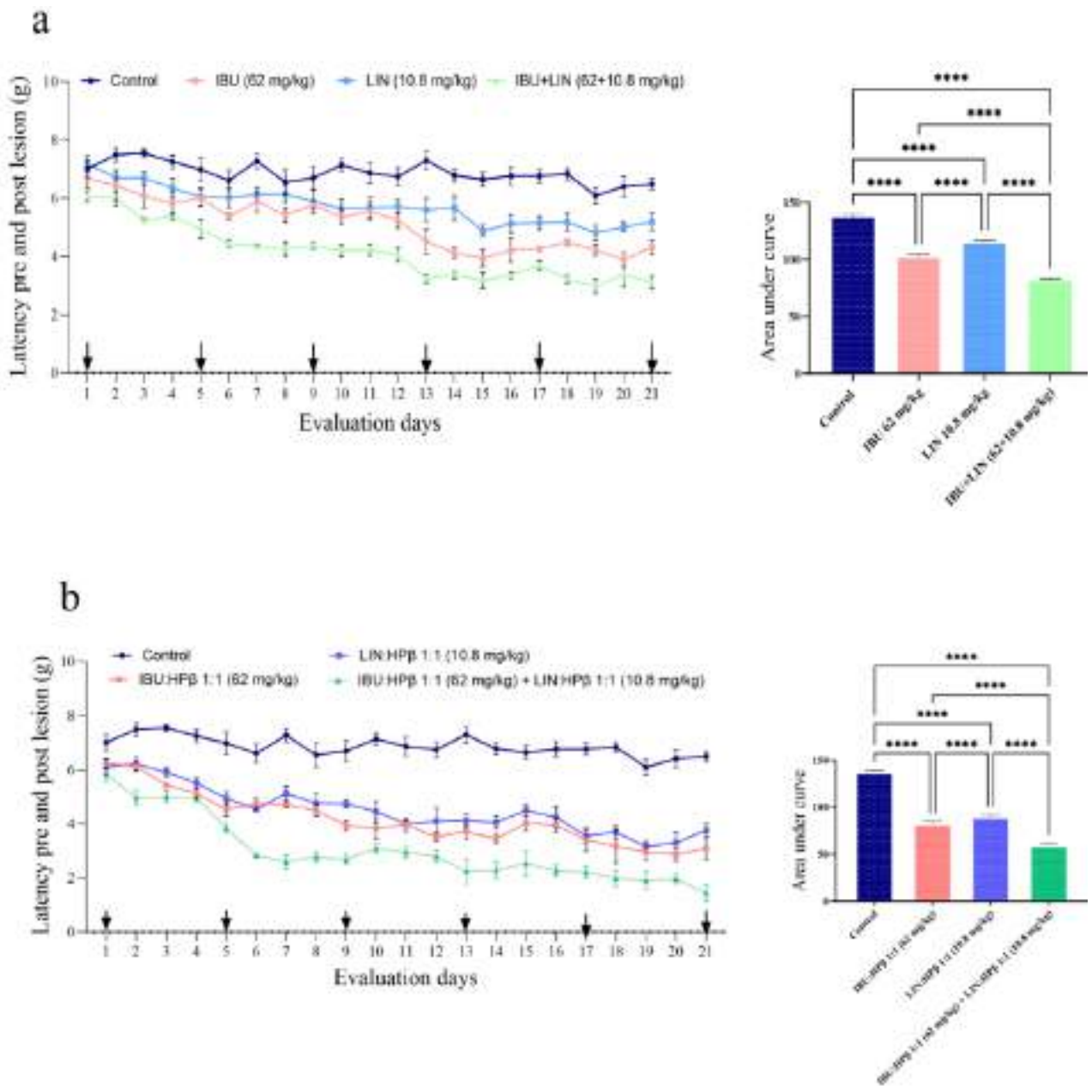
A combinação de produtos naturais e sintéticos tem sido estudada como uma estratégia promissora para potencializar os efeitos terapêuticos, permitindo a redução das doses pré-clínicas avaliadas. (Wisniewski-Rebecca et al., 2015) evidenciaram um efeito sinérgico entre o anetol (éter) e o IBU em dosagens reduzidas, atribuindo o efeito observado à ação inibitória na produção de TNF-α e isoformas da ciclooxigenase. Um estudo recente observou o efeito sinérgico antinociceptivo da coadministração de paracetamol (um inibidor da ciclooxigenase) e *β*-cariofileno (um sesquiterpeno bicíclico natural) em camundongos utilizando o teste de formalina, sugerindo um excipiente terapêutico potencial para o manejo da dor inflamatória (Espinosa-Juárez et al., 2024).

Até o momento, não há relatos na literatura sobre a interação entre a coadministração de LIN e IBU. A combinação desses dois compostos apresentou resultados significativos nos testes de contorção e formalina. No entanto, para uma compreensão mais ampla da eficácia a longo prazo dessa combinação, é fundamental avaliar seu desempenho em modelos de dor crônica. Nesse contexto, a hiperalgesia induzida por CFA foi monitorada ao longo de um período de 21 dias.

3.5.4 Teste de Hiperalgesia Induzida por Adjuvante Completo de Freund

Ao avaliar este modelo, observou-se que os complexos isolados e complexados, bem como suas associações resultaram em uma redução significativa de 25,7% (IBU), 16,7% (LIN), 40,4% (IBU+LIN) (Figura 7a); 39,9% (IBU:HP*β* 1:1), 34,7% (LIN:HP*β* 1:1), 56,7% (IBU:HP*β* +LIN:HP*β* 1:1) (Figura 7b); 51,3% (IBU:HP*β* 2:1); 37,6% (LIN:HP*β* 2:1); 64,5% (IBU: HP*β* +LIN:HP*β* 2:1)

(Figura 7c) na hiperalgesia ao longo de 21 dias, em comparação com o grupo controle. Além disso, as formulações complexadas resultaram em reduções de 27,4% (IBU:HPβ+LIN:HPβ 1:1) e 40,4% (IBU:HPβ+LIN:HPβ 2:1) em relação à combinação isolada (Figura 7d). Os percentuais individuais de inibição ao longo de 21 dias podem ser observados na Tabela 1 do material suplementar. Esses efeitos sugerem uma melhora na modulação da resposta nociceptiva subcrônica induzida por CFA nos grupos tratados com a combinação de IBU e LIN.



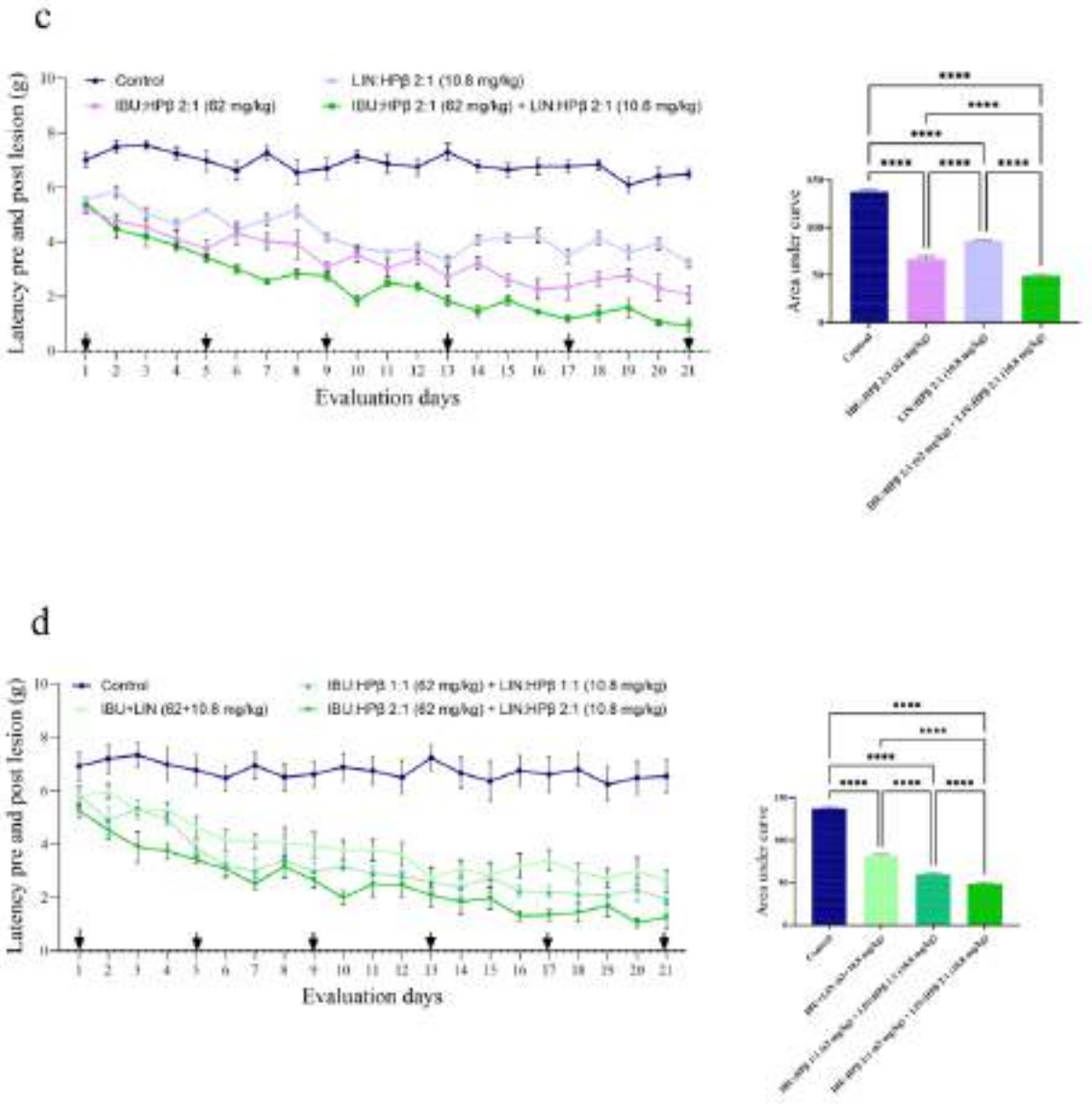


Figura 7. Efeito da hipernocicepção induzida por CFA avaliada pelo teste de Von Frey para IBU, LIN e LIN+IBU (a); IBU:HP*β* (1:1 e 2:1); LIN:HP*β* (1:1 e 2:1); IBU:HP*β*+LIN:HP*β* (1:1 e 2:1) (b e c); IBU+LIN; IBU:HP*β*+LIN:HP*β* (1:1 e 2:1) (d). Os valores representam a média aritmética ± E.P.M. (erro padrão da média) para um grupo de seis animais. As setas indicam os dias de tratamento, durante os quais os animais foram avaliados ao longo de um período de 21 dias. Os valores representam a média aritmética ± E.P.M. (erro padrão da média) para um grupo de seis animais. ANOVA bidirecional seguido pelo teste de *Bonferonni* (**p*<0,05; ***p*<0,01; ****p*<0,001; *****p*<0,0001).

O aumento da solubilidade observado no presente estudo provavelmente corrobora com a hipótese da maior biodisponibilidade dos compostos, o que, em parte pode ter contribuído para a potencialização do efeito antinociceptivo ao longo do período experimental. A complexação com HP*β*CD é estratégia capaz de melhorar a solubilidade, a estabilidade e parâmetros farmacocinéticos relevantes, conforme demonstrado nos modelos avaliados *in vivo*, corroborando com resultados

descrito previamente na literatura (Hu et al., 2021; Zhang et al., 2012). Esses aspectos são particularmente relevantes em modelos de dor crônica, nos quais a manutenção de concentrações terapêuticas ao longo do tempo é essencial para o controle da hiperalgesia persistente.

É importante destacar que, embora estudos *in vitro* frequentemente indiquem maior eficiência dos complexos preparados na razão molar 1:1, no presente estudo os complexos formulados nas razões 1:1 e 2:1 apresentaram efeitos antinociceptivos semelhantes *in vivo* ao longo dos 21 dias de avaliação. Esse achado pode ser explicado pelo fato de que a biodisponibilidade de fármacos complexados a ciclodextrinas depende criticamente da razão ativo:ciclodextrina, sendo influenciada por um equilíbrio dinâmico entre complexação, liberação do fármaco e disponibilidade para absorção. Conforme discutido por Kurkov & Loftsson (2013), quantidades excessivas ou insuficientes de ciclodextrina podem impactar negativamente a liberação do fármaco livre, enquanto razões adequadas favorecem o desempenho terapêutico. Nesse contexto, os complexos LIN:HPβ e IBU:HPβ preparados na razão 2:1 mostraram-se tecnologicamente vantajosos, uma vez que reduziram a diluição do princípio ativo, otimizando o efeito biológico observado.

No modelo de dor crônica induzido por CFA, a resposta hiperalgésica envolve um conjunto complexo de eventos celulares e moleculares, incluindo a liberação sustentada de citocinas pró-inflamatórias, aumento da permeabilidade vascular, recrutamento de células inflamatórias e ativação de vias de sinalização intracelular associadas à sensibilização periférica e central (Fehrenbacher; Vasko; Duarte, 2012). Nesse cenário, o linalol isolado já demonstrou efeito antinociceptivo significativo em modelos de dor persistente, reduzindo a hipersensibilidade mecânica por meio da inibição de mediadores inflamatórios e da modulação de receptores excitatórios, como o receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) (Batista et al., 2010). Esses mecanismos são particularmente relevantes na fase tardia do modelo de CFA, marcada pela manutenção da sensibilização central, e ajudam a explicar a eficácia sustentada observada ao longo do período experimental. Assim, os resultados obtidos sugerem que a combinação entre propriedades farmacológicas intrínsecas dos compostos e a melhoria de suas características físico-químicas por meio da complexação contribui de forma integrada para o controle da hiperalgesia crônica.

4. Conclusão

Os resultados deste estudo demonstram que a associação entre linalol (LIN) e ibuprofeno (IBU) constitui uma estratégia analgésica eficaz e segura, capaz de reduzir significativamente a nocicepção em diferentes modelos experimentais, sem induzir alterações motoras ou comportamentais, indicando ausência de efeitos deletérios relevantes sobre o sistema nervoso central. De forma consistente, tanto os compostos isolados quanto suas associações, livres ou complexadas,

apresentaram atividade antinociceptiva significativa nos modelos de dor aguda e inflamatória, com destaque para o efeito superior observado nas combinações, sugerindo interação aditiva ou potencialmente sinérgica. No teste da formalina, a inibição da nocicepção nas fases neurogênica e inflamatória reforça o envolvimento de mecanismos periféricos e centrais na ação analgésica dos tratamentos. Além disso, no modelo de hiperalgesia crônica induzida por CFA, as formulações complexadas com hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD) promoveram redução sustentada da hipersensibilidade mecânica, evidenciando potencial benefício terapêutico em condições de dor persistente. Do ponto de vista farmacotécnico, a complexação em HPβCD não comprometeu a eficácia farmacológica do linalol e do ibuprofeno, mantendo o perfil antinociceptivo observado para as formas livres. Adicionalmente, proporcionou melhorias relevantes, incluindo aumento da solubilidade aquosa, modulação do perfil de liberação e potencial para liberação mais controlada, aspectos particularmente importantes para aplicações em tratamentos prolongados. As razões molares 1:1 e 2:1 mostraram desempenho semelhante in vivo, indicando sua adequação como sistemas de veiculação. Em conjunto, os achados reforçam que a combinação de linalol e ibuprofeno, aliada à estratégia de complexação com HPβCD, representa uma abordagem promissora para o desenvolvimento de terapias analgésicas mais eficazes e potencialmente mais seguras, integrando racional farmacológico e farmacotecnológico. Esses resultados contribuem para o avanço de estratégias inovadoras voltadas ao manejo da dor, especialmente em contextos que demandam uso contínuo e controle sustentado dos sintomas.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado pela CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FUNCAP (Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico)e FINEP.

Declaração de interesses

Os autores declaram não possuir interesses financeiros concorrentes ou relações pessoais que possam ter influenciado o trabalho relatado neste artigo.

Referências

Allawadhi, P., Singh, V., Govindaraj, K., Khurana, I., Sarode, L. P., Navik, U., Banothu, A. K., Weiskirchen, R., Bharani, K. K., & Khurana, A. (2022). Biomedical applications of polysaccharide nanoparticles for chronic inflammatory disorders: Focus on rheumatoid arthritis, diabetes and organ fibrosis. *Carbohydrate Polymers*, 281, 118923.

Ames, F. Q., Bracht, L., Schneider, L. C. L., Rocha, B. A., Santos, G. A., Lima, E. P., Rocha, E. M. T., Cuman, R. K. N., & Bersani-Amado, C. A. (2020). Anti-inflammatory effect of low-dose anethole and ibuprofen combination is accompanied by partial prevention of hepatic metabolic changes in arthritic rats. *Inflammation*, 43, 1680–1691.

Amirinejad, M., Haghighizadeh, A., Nejabat, M., Etemad, L., & Rajabi, O. (2023). Synthesis, Optimization, and Evaluation of the Inclusion Complex of Ibuprofen-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin: An in Vitro and in Silico Study. *ChemistrySelect*, 8(11), e202204396–e202204396.

Batista, P. A., de Paula Werner, M. F., Oliveira, E. C., Burgos, L., Pereira, P., da Silva Brum, L. F., Story, G. M., & Santos, A. R. S. (2010). The antinociceptive effect of (−)-linalool in models of chronic inflammatory and neuropathic hypersensitivity in mice. *The Journal of Pain*, 11(11), 1222–1229.

Bayiha, J. C., Evrard, B., Cataldo, D., De Tullio, P., & Mingeot-Leclercq, M.-P. (2020). The Budesonide-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin Complex Attenuates ROS Generation, IL-8 Release and Cell Death Induced by Oxidant and Inflammatory Stress. Study on A549 and A-THP-1 Cells. *Molecules*, 25(21), 4882.

Becktel, D. A., Zbesko, J. C., Frye, J. B., Chung, A. G., Hayes, M., Calderon, K., Grover, J. W., Li, A., Garcia, F. G., & Tavera-Garcia, M. A. (2022). Repeated administration of 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HPβCD) attenuates the chronic inflammatory response to experimental stroke. *Journal of Neuroscience*, 42(2), 325–348.

Biernasiuk, A., & Malm, A. (2023). Synergistic interactions between linalool and some antimycotic agents against *Candida* spp. as a basis for developing new antifungal preparations. *Applied Sciences*, 13(9), 5686.

Cosgrove, Kelly T.; Walton, Nathan; Mueller, Bryan A.; Lamar, Matthew; Konrad, Kai; Haines, David E.; Turner, Jon A. Impact Of Ibuprofen And Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma On Emotion-Related Neural Activation: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Brain, Behavior, And Immunity*, V. 96, P. 135–142, 2021.

Carneiro, Simone Braga; Duarte, Andréa D.; Heinemann, Fernanda S.; Quintans-Júnior, Lucindo J.; Quintans, Jozinete V.; Veiga, Francisco; Sousa, Dirceu P. Cyclodextrin–Drug Inclusion Complexes: In Vivo And In Vitro Approaches. *International Journal Of Molecular Sciences*, V. 20, N. 3, P. 642, 2019.

de Oliveira Nonato, R., Krawczyk-Santos, A. P., Cardoso, G., Kogawa, A. C., Ricommini, K., de Lima, Á. A. N., Heimfarth, L., Quintans-Júnior, L. J., Cunha-Filho, M., Taveira, S. F., & Marreto, R. N. (2023). Cyclodextrin inclusion complex of a multi-component natural product by hot-melt extrusion. *Drug Delivery and Translational Research*, 13(4), 1140–1152.

Duarte, A., Luís, Â., Oleastro, M., & Domingues, F. C. (2016). Antioxidant properties of coriander essential oil and linalool and their potential to control *Campylobacter* spp. *Food Control*, 61, 115–122.

Espinosa-Juárez, J. V., Arrieta, J., Briones-Aranda, A., Cruz-Antonio, L., López-Lorenzo, Y., & Sánchez-Mendoza, M. E. (2024). Synergistic Antinociceptive Effect of β-Caryophyllene Oxide in Combination with Paracetamol, and the Corresponding Gastroprotective Activity. *Biomedicines*, 12(5), 1037.

Fehrenbacher, J. C., Vasko, M. R., & Duarte, D. B. (2012). Models of inflammation: carrageenan- or complete freund's adjuvant (CFA)–induced edema and hypersensitivity in the rat. *Current Protocols in Pharmacology*, 56(1), 4–5.

Fischer, M., Carli, G., Raboisson, P., & Reeh, P. (2014). The interphase of the formalin test. *Pain*, 155(3), 511–521.

Gould, T. D., Dao, D. T., & Kovacsics, C. E. (2009). The open field test. *Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests*, 1–20.

Hu, Q., Fu, X., Su, Y., Wang, Y., Gao, S., Wang, X., Xu, Y., & Yu, C. (2021). Enhanced oral bioavailability of koumine by complexation with hydroxypropyl-β-cyclodextrin: preparation, optimization, ex vivo and in vivo characterization. *Drug Delivery*, 28(1), 2415–2426.

Huo, M., Cui, X., Xue, J., Chi, G., Gao, R., Deng, X., Guan, S., Wei, J., Soromou, L. W., & Feng, H. (2013). Anti-inflammatory effects of linalool in RAW 264.7 macrophages and lipopolysaccharide-induced lung injury model. *Journal of Surgical Research*, 180(1), e47–e54.

Jadhav, D., & Vavia, P. (2021). Dexamethasone Sodium Phosphate Loaded Modified Cyclodextrin Based Nanoparticles: An Efficient Treatment for Rheumatoid Arthritis. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 110(3), 1206–1218.

Jan-Roblero, J., & Cruz-Maya, J. A. (2023). Ibuprofen: toxicology and biodegradation of an emerging contaminant. *Molecules*, 28(5), 2097.

Kitak, T., Dumičić, A., Planinšek, O., Šibanc, R., & Srčič, S. (2015). Determination of solubility parameters of ibuprofen and ibuprofen lysinate. *Molecules*, 20(12), 21549–21568.

Koster, R., Anderson, W. R., & de Beer, E. J. (1959). Acetic acid for analgesic screening.

Kou, X., Gao, N., Xu, X., Zhu, J., Ke, Q., & Meng, Q. (2024). Preparation, structural analysis of alcohol aroma compounds/β-cyclodextrin inclusion complexes and the application in strawberry preservation. *Food Chemistry*, 457, 140160.

Kurkov, S. V., & Loftsson, T. (2013). Cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 453(1), 167–180.

LE, Trang T. et al. Effect of ibuprofen on BrainAGE: a randomized, placebo-controlled, dose-response exploratory study. Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging, v. 3, n. 10, p. 836-843, 2018.

Leksiri, S., Hasriadi, H., Dasuni Wasana, P. W., Vajragupta, O., Rojsitthisak, P., & Towiwat, P. (2020). Co-administration of Pregabalin and Curcumin Synergistically Decreases Pain-Like Behaviors in Acute Nociceptive Pain Murine Models. *Molecules*, 25(18), 4172.

Liu, H., Guo, S., Wei, S., Liu, J., & Tian, B. (2024). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cyclodextrin-based oral drug delivery formulations for disease therapy. *Carbohydrate Polymers*, 329, 121763.

LIMA, Pollyana S. S.; LUCENA, Jéssica D.; FARIAS, Juliana S.; ANDRADE, Luiz N.; SILVA, Priscilla C.; QUINTANS-JÚNIOR, Lucindo J.; BARBOSA, Eduardo G.; QUINTANS, Jozinete V. Inclusion Of Terpenes In Cyclodextrins: Preparation, Characterization And Pharmacological Approaches. Carbohydrate Polymers, V. 151, P. 965–987, 2016.

Loftsson, T., Ólafsdóttir, B. J., Friðriksdóttir, H., & Jónsdóttir, S. (1993). Cyclodextrin complexation of NSAIDs: physicochemical characteristics. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(2), 95–101.

Maguire, A. D., Bethea, J. R., & Kerr, B. J. (2021). TNFα in MS and its animal models: implications for chronic pain in the disease. *Frontiers in Neurology*, 12, 780876.

Martinov, T., Mack, M., Sykes, A., & Chatterjea, D. (2013). Measuring changes in tactile sensitivity in the hind paw of mice using an electronic von Frey apparatus. *Journal of Visualized Experiments*, 82, 1–6.

Miranda, G. M., Santos, V. O. R. e, Bessa, J. R., Teles, Y. C. F., Yahouedehou, S. C. M. A., Goncalves, M. S., & Ribeiro-Filho, J. (2021). Inclusion complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs with cyclodextrins: A systematic review. *Biomolecules*, 11(3), 361.

Moussii, I. M., Nayme, K., Timinouni, M., Jamaleddine, J., Filali, H., & Hakkou, F. (2020). Synergistic antibacterial effects of Moroccan *Artemisia herba alba*, *Lavandula angustifolia* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Synergy*, 10, 100057.

Mura, P., Bettinetti, G. P., Manderioli, A., Faucci, M. T., Bramanti, G., & Sorrenti, M. (1998). Interactions of ketoprofen and ibuprofen with β-cyclodextrins in solution and in the solid state. *International Journal of Pharmaceutics*, 166(2), 189–203.

Nawaz, S., Irfan, H. M., Akram, M., & Jahan, S. (2023). Linalool: Monoterpene alcohol effectiveness in chronic synovitis through lowering Interleukin-17, spleen and thymus indices. *International Immunopharmacology*, 121, 110517.

Paiva-Santos, A. C., Ferreira, L., Peixoto, D., Silva, F., Soares, M. J., Zeinali, M., Zafar, H., Mascarenhas-Melo, F., Raza, F., Mazzola, P. G., & Veiga, F. (2022). Cyclodextrins as an encapsulation molecular strategy for volatile organic compounds—Pharmaceutical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 218, 112758.

Pritchett, K., & Mulder, G. B. (2003). The rotarod. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 42(6), 49.

Punjanon, T., Phumsuay, R., & Wongsawat, M. (2016). Evaluation of Antinociception Effect of *Derris scandens* Using Acetic Acid-induced Abdominal Constriction Test in Mice. *Proceeding of RSU International Research Conference 2016*, 65–69.

Raguso, R. A. (2016). More lessons from linalool: insights gained from a ubiquitous floral volatile. *Current Opinion in Plant Biology*, 32, 31–36.

Rodríguez-López, M. I., Mercader-Ros, M. T., Lucas-Abellán, C., Pellicer, J. A., Pérez-Garrido, A., Pérez-Sánchez, H., Yáñez-Gascón, M. J., Gabaldón, J. A., & Núñez-Delicado, E. (2020). Comprehensive characterization of linalool-HP-β-cyclodextrin inclusion complexes. *Molecules*, 25(21), 5069.

Sawynok, J., & Liu, X. J. (2003). The formalin test: characteristics and usefulness of the model. *Reviews in Analgesia*, 7(2), 145–163.

Souto-Maior, F. N., Fonsêca, D. V. da, Salgado, P. R. R., Monte, L. de O., de Sousa, D. P., & de Almeida, R. N. (2017). Antinociceptive and anticonvulsant effects of the monoterpene linalool oxide. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 63–67.

Ssengooba, F., Marimuthu, T., Olivier, E. I., Demana, P. H., & Choonara, Y. E. (2022). Comparison of laser nephelometric and HPLC techniques for efficient determination of solubility of ibuprofen and its 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex. *South African Journal of Chemistry*, 76, 49–55.

Suvarna, V., & Chippa, S. (2023). Current overview of cyclodextrin inclusion complexes of volatile oils and their constituents. *Current Drug Delivery*, 20(6), 770–791.

Tena, B., Escobar, B., Arguis, M. J., Cantero, C., Rios, J., & Gomar, C. (2012). Reproducibility of electronic von Frey and von Frey monofilaments testing. *The Clinical Journal of Pain*, 28(4), 318–323.

Tjølsen, A., Berge, O. G., Hunskaar, S., Rosland, J. H., & Hole, K. (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 51(1), 5–17.

TOPUZ, Ruhan Deniz et al. Non-opioid analgesics and the endocannabinoid system. Balkan medical journal, v. 37, n. 6, p. 309, 2020.

Trotta, F., Loftsson, T., Gaud, R. S., Trivedi, R., & Shende, P. (2022). Integration of cyclodextrins and associated toxicities: A roadmap for high quality biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 295, 119880.

Upadhyay, C., D'Souza, A., Patel, P., Verma, V., Upadhayay, K. K., & Bharkatiya, M. (2023). Inclusion Complex of Ibuprofen-β-Cyclodextrin Incorporated in Gel for Mucosal Delivery: Optimization Using an Experimental Design. *AAPS PharmSciTech*, 24(4), 100.

Van Dervort, A. L., Yan, L., Madara, P. J., Cobb, J. P., Wesley, R. A., Corriveau, C. C., Tropea, M. M., & Danner, R. L. (1994). Nitric oxide regulates endotoxin-induced TNF-alpha production by human neutrophils. *Journal of Immunology*, 152(8), 4102–4109.

Wisniewski-Rebecca, E. S., Rocha, B. A., Wiirzler, L. A. M., Cuman, R. K. N., Velazquez-Martinez, C. A., & Bersani-Amado, C. A. (2015). Synergistic effects of anethole and ibuprofen in acute inflammatory response. *Chemico-Biological Interactions*, 242, 247–253.

Xie, Y., & Wang, C. (2023). Herb–drug interactions between *Panax notoginseng* or its biologically active compounds and therapeutic drugs: A comprehensive pharmacodynamic and pharmacokinetic review. *Journal of Ethnopharmacology*, 307, 116156.

Yimam, M., Brownell, L., Hodges, M., & Jia, Q. (2012). Analgesic effects of a standardized bioflavonoid composition from *Scutellaria baicalensis* and *Acacia catechu*. *Journal of Dietary Supplements*, 9(3), 155–165.

Zhang, L., Song, L., Zhang, C., & Ren, Y. (2012). Improving intestinal insulin absorption efficiency through coadministration of cell-penetrating peptide and hydroxypropyl-β-cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1822–1827.

Zhou, W. Z., Zhao, T. Y., Wang, Z. Y., Lu, G. Y., Zhang, S. Z., Zhang, C., Wu, N., & Li, J. (2019). Synergistic antinociception between ZC88, an N-type voltage-dependent calcium channel blocker, and ibuprofen in mouse models of visceral and somatic inflammatory pain. *European Journal of Pain*, 23(1), 46–56.

CAPÍTULO III: **Modulação do estresse oxidativo e da resposta inflamatória da administração e coadministração de ibuprofeno e linalol isolados e seus complexos em hidroxipropril-β-ciclodextrina**

Isabel Sousa Alcântara[a]; Gleidson Cardoso[b]; Lucas Yure Santos da Silva [a]; Thayna Moraes Clementino[a]; Mariana da Silva Severo[a]; Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins [a]; Maria Alícia Cavalcante Narciso[a]; Stephânia Fleury Taveira [b]; José Galberto Martins da Costa[b]; Ricardo Neves Marreto[c*]; Irwin Rose Alencar de Menezes[a*]

[a] Laboratório de Farmacologia e Química Molecular (LFQM), Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri, Rua Coronel Antônio Luís, nº 1161, Crato, 63105-000, CE, Brasil.

[b] Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais (LPPN), Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri, Rua Coronel Antônio Luís, nº 1161, Crato, 63105-000, CE, Brasil.

[c] Laboratório de Nanosistemas e Dispositivos de Liberação de Fármacos (NanoSYS), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Rua 240, Setor Universitário Leste, Goiânia, GO, 74605-170, Brasil.

*Corresponding author: Alcântara, IS (isabel.alcantara@urca.br); Menezes, IRA (Irwin.alencar@urca.br)

Resumo

O linalol (LIN), um monoterpeno bioativo, e o ibuprofeno (IBU), um anti-inflamatório não esteroidal, apresentam efeitos anti-inflamatórios bem caracterizados, e estratégias terapêuticas baseadas na associação de compostos com esse perfil farmacológico têm demonstrado resultados promissores no controle de processos inflamatórios. Este estudo investigou os efeitos anti-inflamatórios e sua ação sobre o estresse oxidativo da administração isolada e combinada de ibuprofeno (IBU) e linalol (LIN) e seus complexos em hidroxipropil-*β*-ciclodextrina (HP*β*CD) (razões molares 1:1 e 2:1). As análises dos isolados e seus complexos foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada a detector por ionização em chama (GC/FID), com determinação dos limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ). Camundongos *Swiss* foram utilizados para a avaliação dos efeitos farmacológicos das substâncias testadas. O efeito antiedematogênico foi avaliado no modelo de edema induzido por carragenina. No modelo de peritonite aguda, foram analisados o recrutamento leucocitário e a atividade da mieloperoxidase (MPO). A peroxidação lipídica nos tecidos inflamados induzidos por CFA foi determinada por meio da quantificação de malondialdeído (MDA), utilizado como marcador de estresse oxidativo. No modelo crônico, o edema induzido por Adjuvante Completo de Freund (CFA) foi mensurado ao longo de 21 dias por pletismometria. A análise por GC/FID confirmou a

complexação de LIN e IBU, com LOD/LOQ de 0,0741/0,2472 e 0,0461/0,1539 µg/mL, respectivamente. As concentrações de LIN nos complexos 1:1 e 2:1 foram 104,27 ppm (20,9%) e 93,83 ppm (18,8%), indicando maior eficiência de complexação na razão 1:1, enquanto as de IBU foram 161,65 ppm (32,3%) e 229,84 ppm (46,0%), evidenciando maior incorporação na razão 2:1. No modelo de edema de pata induzido por carragenina, o efeito combinado das associações IBU + LIN e IBU:HPβ + LIN:HPβ (1:1) promoveram inibições de 63,5% e 71,0%, respectivamente. A coadministração dos compostos livres e complexados reduziu significativamente a atividade da MPO, o recrutamento leucocitário e os níveis de MDA. No modelo de inflamação crônica induzido por CFA, as associações IBU + LIN e IBU:HPβ + LIN:HPβ nas razões 1:1 e 2:1 reduziram o edema em 54,4%, 58,3% e 55,5%, respectivamente, ao longo de 21 dias. De forma consistente, a associação entre ibuprofeno (IBU) e linalol (LIN), particularmente quando complexada com hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD) na razão molar 1:1, apresentou efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes superiores aos observados com os compostos isolados. Esses achados indicam que a coadministração e a complexação farmacotécnica potencializam as respostas biológicas avaliadas, sustentando essa estratégia como uma abordagem eficaz para a modulação de processos inflamatórios persistentes.

Palavras-chave: ibuprofeno; linalol; inflamação; Hidroxipropil-β-Ciclodextrina.

LISTA DE ABREVIAÇÕES

LIN – Linalol
IBU – ibuprofeno
HPβCD – Hidroxipropil-β-Ciclodextrina
GC/FID – Cromatografia gasosa acoplada a detector por ionização em chama
LOD – Limite de detecção
LOQ – Limite de quantificação
MPO – Mieloperoxidase
MDA – Malondialdeído
CFA – Adjuvante Completo de Freund
CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
PD – Pata direita
PE – Pata esquerda

1. Introdução

A inflamação e o estresse oxidativo estão intimamente relacionados e desempenham papéis centrais na fisiopatologia da dor aguda e crônica (Hore; Denk, 2019). A ativação de células inflamatórias resulta na liberação de mediadores pró-inflamatórios, como citocinas e prostaglandinas, além da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que atuam como moduladores redox, contribuindo para a sensibilização periférica e central dos nociceptores (Forrester et al., 2018). O desequilíbrio entre a produção de EROs e os sistemas antioxidantes endógenos intensifica o dano tecidual, perpetua o processo inflamatório e agrava a resposta nociceptiva, tornando o controle simultâneo desses mecanismos um alvo terapêutico relevante (Leyane; Jere; Houreld, 2022).

Nesse contexto, a terapia combinada tem emergido como uma estratégia promissora no manejo da inflamação e da dor, ao permitir a atuação simultânea em múltiplas vias envolvidas na resposta inflamatória (Li et al., 2024). A associação de fármacos convencionais com compostos bioativos de origem natural pode otimizar os efeitos terapêuticos por meio de ações complementares, favorecendo a modulação de mediadores inflamatórios e do estresse oxidativo (Wi et al., 2020).

Nesse cenário, fármacos capazes de modular a cascata inflamatória desempenham papel fundamental no manejo da dor, destacando-se o ibuprofeno (IBU), um anti-inflamatório não esteroidal amplamente utilizado, que atua principalmente pela inibição das isoformas da ciclooxigenase e consequente redução da síntese de prostaglandinas (Ainyanbhor et al., 2025). Entretanto, o uso prolongado do IBU está associado a efeitos adversos, especialmente gastrointestinais e renais, o que motiva a busca por estratégias que permitam a redução da dose sem perda da eficácia terapêutica (Zhang et al., 2022). Nesse cenário, compostos naturais dotados de ampla atividade biológica têm se destacado como potenciais moduladores da eficácia de fármacos convencionais (Bota et al., 2025).

O linalol (LIN), um monoterpeno encontrado em óleos essenciais, apresenta propriedades antinociceptivas (Batista et al., 2010), anti-inflamatórios (Kim et al., 2019) e antioxidantes (Seol et al., 2016) bem documentados. Evidências experimentais indicam que esse composto é capaz de modular a produção de citocinas pró-inflamatórias, reduzir o estresse oxidativo e interferir em vias de sinalização envolvidas na sensibilização nociceptiva, tanto em modelos de dor inflamatória quanto crônica (Goswami et al., 2025). Além disso, estudos demonstram que o LIN pode potencializar os efeitos terapêuticos quando associado a fármacos convencionais, como a indometacina, bem como a outros agentes, a exemplo da doxorrubicina, cuja coencapsulação em lipossomos resultou em maior efeito antitumoral e indução de apoptose, sem aumento de toxicidade sistêmica (Ahammed et al., 2025; Wi et al., 2020). Nesse contexto, a associação entre LIN e fármacos sintéticos, como o IBU,

emerge como uma estratégia promissora para potencializar os efeitos analgésicos e anti-inflamatórios por meio de mecanismos complementares, possibilitando a redução de doses e de efeitos adversos.

Contudo, limitações relacionadas à solubilidade aquosa e à biodisponibilidade podem comprometer a eficácia *in vivo*, tornando a complexação com hidroxipropil-*β*-ciclodextrina (HP*β*CD**)** uma abordagem eficaz para melhorar as propriedades físico-químicas desses compostos, favorecendo uma resposta terapêutica mais consistente (Shi et al., 2016). Nesse sentido, estudos têm demonstrado que o LIN forma complexos de inclusão estáveis com HP*β*CD, resultando em aumento na sua solubilidade aquosa e estabilidade (Rodríguez-López et al., 2020). De maneira semelhante, a complexação do IBU com HP*β*CD promove elevação significativa da solubilidade e melhora do perfil de dissolução, inclusive em sistemas nanofibrilares de dissolução rápida, o que pode favorecer sua biodisponibilidade e resposta terapêutica *in vivo* (Celebioglu; Uyar, 2019).

Dessa forma, a investigação da modulação do estresse oxidativo e da resposta inflamatória promovida pelo ibuprofeno e pelo linalol, tanto isolados quanto complexados em HP*β*CD, representa uma abordagem inovadora e relevante. A compreensão desses mecanismos pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias farmacológicas mais eficazes e seguras no manejo da dor e da inflamação, ampliando as possibilidades terapêuticas da associação racional entre fármacos sintéticos e produtos naturais, com perspectivas promissoras para investigações futuras.

2. Materiais e métodos

2.1 Reagentes e materiais

O (±)linalol (≥97%; L2602-Sigma-Aldrich) , ibuprofeno (≥98%; I4883-Sigma-Aldrich), Adjuvante Completo de Freund (344289-Sigma-Aldrich), formalina e ácido acético foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EUA). A hidroxipropil-β-ciclodextrina foi fornecida pela Ashland (W7 HP7 PHARMA, lote A1411A0050, 1520 da substituição molar 1,03 conforme estimado por 1H NMR, grau de substituição 7,21).

2.2 Complexos de inclusão

Os complexos de inclusão de linalol (LIN) e ibuprofeno (IBU) com hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD) foram preparados e caracterizados por métodos físico-químicos, térmicos, difratométricos e espectroscópicos conforme previamente descrito por Alcantara et al. (2026). No presente estudo, os complexos, bem como os fármacos livres, foram adicionalmente avaliados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC/FID) para fins de quantificação,

assegurando a consistência metodológica entre os estudos e ampliando a caracterização analítica dos complexos de inclusão.

2.3 Preparação de padrão e da amostra

Os padrões de LIN e IBU foram diluídos separadamente em diclorometano grau UV/HPLC (99,9%) para obtenção de soluções estoque na concentração de 5.000 ppm. A partir dessas soluções, foram preparadas as soluções utilizadas na construção das curvas de calibração, com concentrações variando de 100 a 1.000 ppm. As amostras correspondentes aos complexos de inclusão LIN:HPβCD e IBU:HPβCD (1:1 e 2:1) foram preparadas na concentração final de 500 ppm, utilizando o mesmo solvente, para posterior análise quantitativa.

2.4 Cromatografia Gasosa acoplada a Detector por Ionização em Chama

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a gás GC-2010 Plus (Shimadzu), equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar de sílica fundida SH-Rtx-5 (30 m × 0,25 mm de diâmetro interno; 0,25 µm de espessura de filme). O programa de temperatura do forno foi iniciado a 80 °C, elevando-se até 180 °C a uma taxa de 4 °C/min, seguido de aquecimento até 246 °C a 6,6 °C/min e, posteriormente, até 280 °C a 3,4 °C/min, mantendo-se essa temperatura por 10 min, totalizando um tempo de análise de 30 min. O hélio foi utilizado como gás de arraste, com vazão de 1,5 mL/min, em modo split (1:15). A temperatura do injetor foi ajustada para 220 °C, com volume de injeção de 1 µL. A temperatura do detector foi mantida a 300 °C. O índice de retenção linear foi determinado pela injeção de uma mistura de hidrocarbonetos lineares C8–C40 nas mesmas condições cromatográficas, conforme descrito por Van Den Dool & Kratz (1963). A identidade de IBU e LIN foram confirmadas pela comparação de seus índices de retenção e dados reportados na literatura (Adams, 2017). A quantificação foi realizada pelo método do padrão externo, com integração das áreas dos picos cromatográficos. As curvas analíticas foram construídas a partir de três curvas independentes. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados com base no desvio padrão da resposta (σ) e na inclinação da curva de calibração (S), utilizando as equações LOD = 3,3σ/S e LOQ = 10σ/S.

2.3 Ensaios in vivo

2.3.1 Animais e aspectos éticos

Os camundongos *Swiss* (*Mus musculus*), de ambos os sexos, com massa corporal variando entre 20 e 30 g, mantidos em condições ambientais controladas, com temperatura de 23 ± 2 °C e ciclo claro/escuro de 12 h. com livre acesso à água e ração comercial Presence® (Purina). Antes da realização dos experimentos, os animais foram submetidos a jejum, mantendo-se o acesso à água *ad libitum*. Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos em conformidade com as diretrizes éticas para o uso de animais em pesquisa e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Regional do Cariri (CEUA/URCA, protocolo nº 00247/2023-1).

2.3.2 Estimativa das doses testadas

A definição das doses empregadas neste estudo foi baseada em levantamento prévio da literatura, visando identificar as faixas de doses eficazes de linalol (LIN) e ibuprofeno (IBU) em modelos murinos. A partir desses dados, foi calculada a dose média reportada para IBU (185 mg/kg; intervalo de 140–200 mg/kg) e para LIN (32,5 mg/kg; intervalo de 25–40 mg/kg). Considerando a estratégia de redução posológica, as doses adotadas corresponderam a aproximadamente um terço dessas médias, resultando em 62 mg/kg para IBU e 10,8 mg/kg para LIN, o que representa reduções de cerca de 66,5% e 66,8%, respectivamente, em relação aos valores descritos na literatura (Souto-Maior et al., 2017; Zhou et al., 2019).

2.3.4 Delineamento dos tratamentos

Todos os procedimentos *in vivo* foram conduzidos por via oral, utilizando sonda de gavagem apropriada para camundongos, com extremidade arredondada, garantindo a administração segura e precisa das formulações. O volume de administração foi padronizado em 0,1 mL/10 g de peso corporal para todos os grupos experimentais (Tabela 1).

No modelo de edema de pata induzido por carragenina a 1%, bem como nos ensaios de resposta anti-inflamatória em peritonite (dosagem de mieloperoxidase e contagem total de leucócitos) e na determinação tecidual dos níveis de malondialdeído e de proteínas totais, foram avaliados os fármacos isolados e os complexos de inclusão apenas na razão molar 1:1, não sendo testada a razão molar 2:1. Em contraste, no modelo de edema crônico induzido pelo adjuvante completo de Freund, os fármacos isolados e ambas as razões molares dos complexos (1:1 e 2:1) foram avaliados a fim de investigar o comportamento das diferentes proporções molares em um contexto inflamatório persistente e de longo prazo, ao longo dos 21 dias de experimento.

Tabela 1. Grupos experimentais e seus respectivos tratamentos administrados aos camundongos.

Tratamento	Forma/complexação	Dose

Controle	Veículo (H_2O destilada)	0,1 mL/10 g
IBU	Fármaco livre	62 mg/kg
LIN	Produto natural livre	10,8 mg/kg
IBU + LIN	Associação livres	62 + 10,8 mg/kg
IBU:HPβ	Complexo (razão molar 1:1)	62 mg/kg
LIN:HPβ	Complexo (razão molar 1:1)	10,8 mg/kg
IBU:HPβ + LIN:HPβ	Associação de complexos (razão molar 1:1)	62 + 10,8 mg/kg
IBU:HPβ	Complexo (razão molar 2:1)	62 mg/kg
LIN:HPβ	Complexo (razão molar 2:1)	10,8 mg/kg
IBU:HPβ + LIN:HPβ	Associação de complexos (razão molar 2:1)	62 + 10,8 mg/kg

2.3.5 Edema de pata induzido por carragenina 1%

Camundongos *Swiss* (n = 6/grupo) tiveram o volume inicial (Vi) da pata posterior direita/esquerda avaliado por pletismometria. Em seguida, os animais foram tratados conforme descrito em 2.3.4. Após 1h, os animais receberam carragenina (p/v) (20 µl/pata) na pata posterior direita e veículo (20 µl/pata) na pata esquerda. A mensuração do edema foi realizada pela diferença entre o volume final da pata direita ou esquerda (Vf), expresso em microlitros (µL) e aferido após a indução do processo inflamatório, e o volume inicial (Vi), obtido antes da administração do agente flogístico, sendo calculada de acordo com a equação: Volume do edema (µL) = Vf – Vi (Winter et al., 1962).

2.3.6 Resposta anti-inflamatória em modelo de peritonite

Os tratamentos foram administrados aos camundongos (n = 6/grupo), conforme a organização experimental descrita. Após 1 hora, foi administrada carragenina a 1% (1 mL), por via intraperitoneal, para indução do processo inflamatório. Quatro horas após o estímulo flogístico, os animais foram eutanasiados e submetidos ao lavado peritoneal por meio da injeção de 3 mL de PBS heparinizado na cavidade abdominal, seguida de massagem para facilitar a recuperação do fluido. O material coletado foi acondicionado em tubos apropriados para a dosagem de mieloperoxidase e contagem total de leucócitos.

2.3.6.1 Dosagem da mieloperoxidase

A atividade da mieloperoxidase (MPO) no lavado peritoneal foi avaliada como marcador de infiltração de neutrófilos e resposta inflamatória. A dosagem foi realizada a partir da reação de o-dianisidina com peróxido de hidrogênio (H_2O_2), resultando em um produto colorido proporcional à atividade enzimática presente nas amostras. As leituras espectrofotométricas foram realizadas em microplaca a 600 nm, conforme Bradley et al. (1982).

2.3.6.2 Contagem total de leucócitos

Para a avaliação do recrutamento celular no modelo de peritonite, a contagem total de leucócitos no lavado peritoneal foi realizada de acordo com o método descrito por De Souza & Ferreira, (1985). Uma alíquota de 20 µL de cada amostra foi diluída em 380 µL do reagente de Turk. A contagem celular foi realizada em câmara de Neubauer sob microscopia óptica, e os resultados foram expressos como número total de leucócitos por volume de lavado.

2.3.7 Determinação dos níveis de malondialdeído tecidual e proteínas totais

A peroxidação lipídica foi avaliada no tecido da pata de camundongos com inflamação induzida por CFA por meio da determinação do malondialdeído (MDA) utilizando o ácido tiobarbitúrico (TBA) de acordo com Gotz et al. (1993) e Ohkawa et al. (1976). Para a preparação das amostras, os tecidos foram homogenizados em tampão PBS contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e hidroxitoleno butilado (BHT), visando prevenir a degradação enzimática e a oxidação lipídica durante o processamento. Após a homogenização, as amostras foram incubadas com ácido tricloroacético (TCA) e TBA, formando um complexo colorido proporcional à concentração de MDA. O 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) foi utilizado para construção da curva padrão. A absorbância foi determinada em leitor de microplacas a 532 nm. Os valores obtidos foram normalizados pelo teor de proteínas totais das amostras e expressos como nmol de malondialdeído (MDA) por mg de proteína, sendo utilizados como indicador quantitativo do estresse oxidativo local. A determinação das proteínas totais foi realizada pelo método enzimático utilizando kit comercial (LABTESTE®), com leitura da absorbância a 492 nm, a qual é diretamente proporcional à concentração proteica da amostra.

2.3.8 Efeito antiedematogênico induzido pelo Adjuvante completo de Freud

Todos os tratamentos foram administrados, conforme a organização experimental apresentada na tabela 1. Os camundongos *Swiss* (n = 6) tiveram o volume basal da pata traseira direita mensurado 24 h e 30 min antes da indução do processo inflamatório. Em seguida, os animais receberam o Adjuvante Completo de Freud (CFA) (p/v; 20 µL/pata) por via intraplantar na pata traseira direita e foram distribuídos nos respectivos grupos experimentais. A mensuração do edema foi realizada por meio da avaliação do volume das patas traseiras direita e esquerda, utilizando o pletismômetro (Almemo 2490, Alemanha). As avaliações foram realizadas ao longo de 21 dias consecutivos, com os tratamentos administrados nos dias 5º, 9º, 13º, 17º e 21º, conforme descrito por Martinov et al. (2013) e Tena et al. (2012). Para a mensuração do edema, a variação de volume (Δ) foi determinada

pela diferença entre o volume da pata traseira direita (PD), inflamada, e o da pata traseira esquerda (PE), não inflamada, conforme a equação abaixo.

$$\Delta = PD - PE$$

2.4 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (EPM), avaliados por análise de variância (ANOVA) com modelo de efeitos mistos, seguida de teste pós-hoc *Tukey*, *Sidak*, *Bonferroni* ou *Dunnett*. Os cálculos foram realizados utilizando o software GraphPad Prism (versão 8.0), com base nos valores obtidos dos testes. Para todas as análises, $p < 0,05$ foi considerado significativo.

3. Resultados e discussão

3.1 Cromatografia gasosa acoplada a detector por ionização em chama

Os cromatogramas obtidos por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (GC/FID) demonstraram adequada separação e detecção do linalol e do ibuprofeno, evidenciada pela presença de picos bem definidos, simétricos e reprodutíveis. Na Fig. 1, o cromatograma correspondente ao padrão de linalol apresentou um pico majoritário com tempo de retenção de 6,617 min, sem interferências relevantes, confirmando a seletividade do método para esse analito. A curva de calibração construída a partir das diferentes concentrações avaliadas apresentou comportamento linear, descrito pela equação y = 876,56x − 50.413, com elevado coeficiente de determinação (r^2 = 0,9988), indicando linearidade na faixa de concentração estudada.

A Fig. 2 apresenta o cromatograma do padrão de ibuprofeno, no qual foi observado um pico bem resolvido com tempo de retenção de 12,807 min, também sem sobreposição com outros sinais cromatográficos. A curva analítica correspondente exibiu relação linear entre a área do pico e a concentração, conforme a equação y = 878,43x − 11.6169, com coeficiente de determinação r^2 = 0,9901, demonstrando a adequação do método para a quantificação do ibuprofeno.

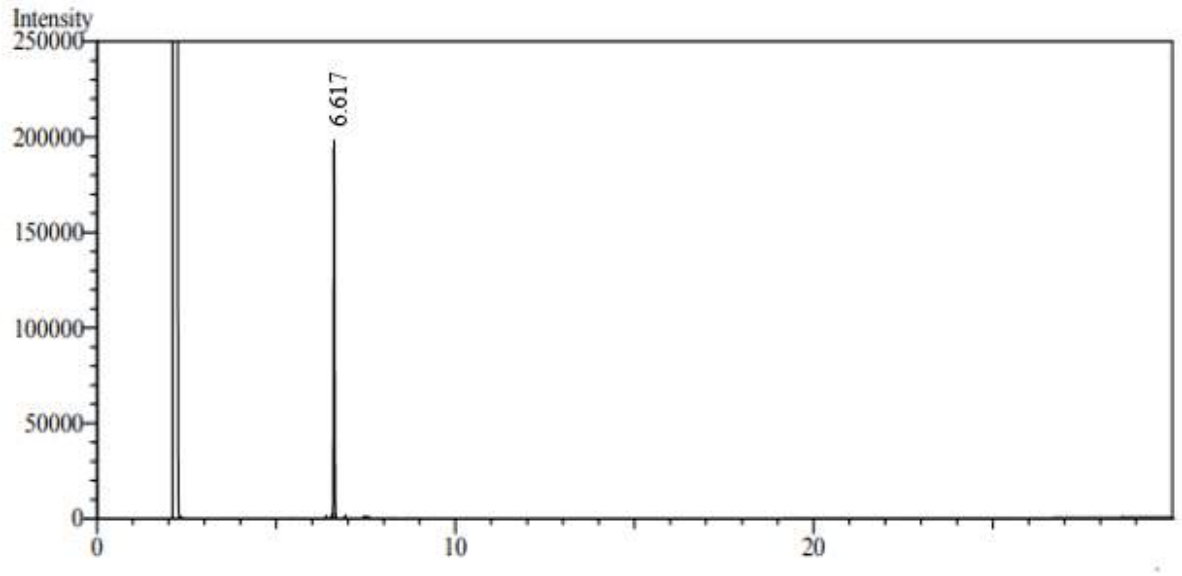


Fig. 1. Perfil GC/FID do padrão linalool (RT: 6.617). Curva de calibração: y = 876,56x - 50413 (r^2 = 0,9988).

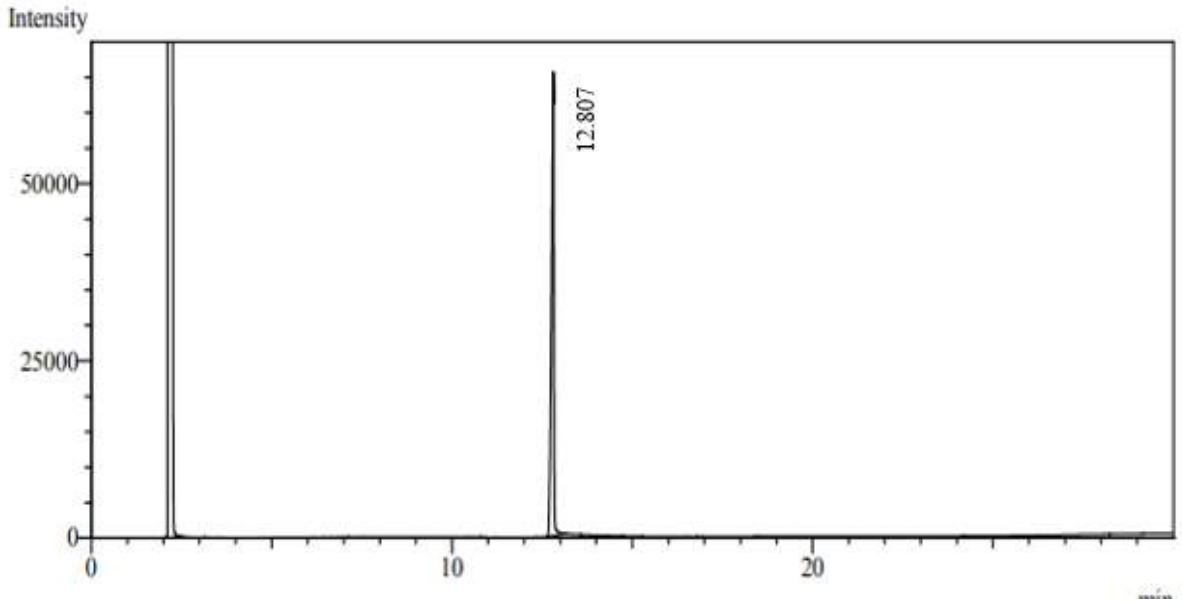


Fig. 2. Perfil GC/FID do padrão ibuprofeno (RT: 12.807). Curva de calibração: y = 878,43x – 116169 (r^2 = 0,9901).

Os cromatogramas obtidos por GC/FID para os complexos de inclusão na razão molar 1:1 evidenciaram a presença dos picos característicos do linalol e do ibuprofeno, com tempos de retenção compatíveis com aqueles observados para os respectivos padrões, confirmando a preservação da identidade química dos compostos após o processo de complexação.

Na Fig. 3, correspondente ao cromatograma do complexo LIN:HPβ (1:1), observa-se um pico bem definido com tempo de retenção de 6,617 min, coincidente com o tempo de retenção do padrão de LIN. A ausência de picos adicionais relevantes no cromatograma indica boa seletividade do método e sugere ausência de interferentes ou produtos de degradação provenientes da matriz do complexo. De forma semelhante, a Fig. 4 apresenta o cromatograma do complexo IBU:HPβ (1:1), no qual foi observado um pico com tempo de retenção de 12,807 min, correspondente ao IBU. O perfil

cromatográfico obtido não evidenciou sinais interferentes significativos, demonstrando que o método empregado foi adequado para a detecção e quantificação do fármaco na forma complexada.

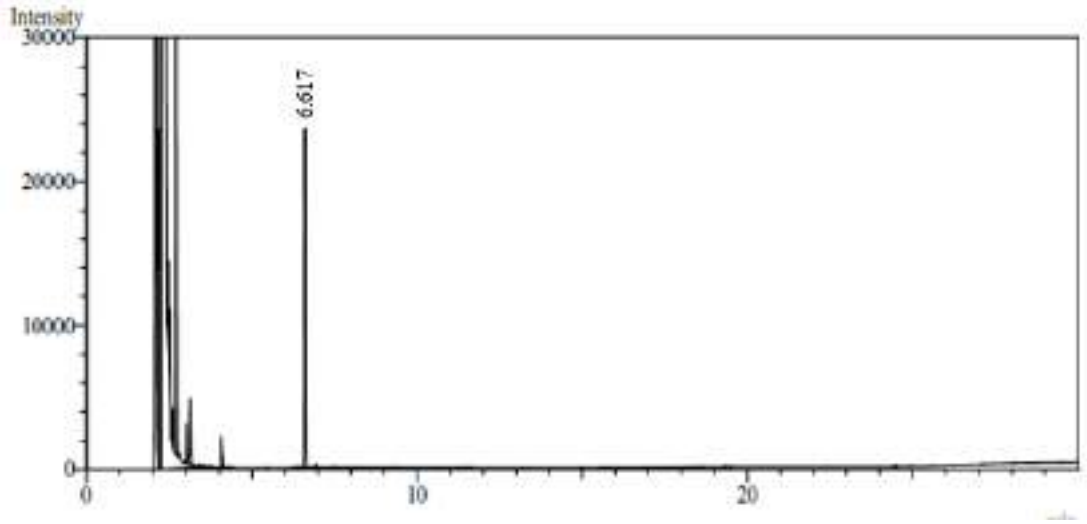


Fig. 3. Perfil GC/FID do LIN:HPβ 1:1 (RT: 6.617).

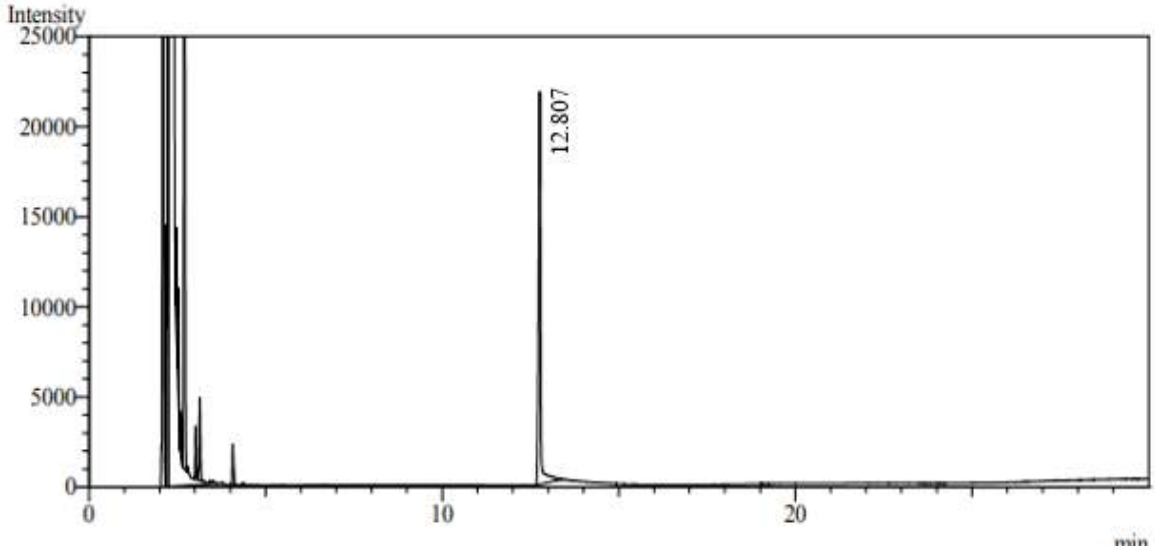


Fig. 4. Perfil GC/FID do IBU:HPβ 1:1 (RT: 12.807).

Conforme apresentado na Fig. 5, referente ao perfil cromatográfico do complexo LIN:HPβ (2:1), observa-se um pico característico com tempo de retenção de 6,617 min, correspondente ao LIN. O cromatograma não apresentou picos interferentes relevantes, indicando adequada seletividade do método e ausência de produtos de degradação detectáveis. Com relação ao IBU:HPβ (2:1), apresentado na fig. 6, foi identificado um pico bem resolvido com tempo de retenção de 12,807 min, característico do ibuprofeno. O perfil cromatográfico demonstra boa resolução e estabilidade do analito na forma complexada.

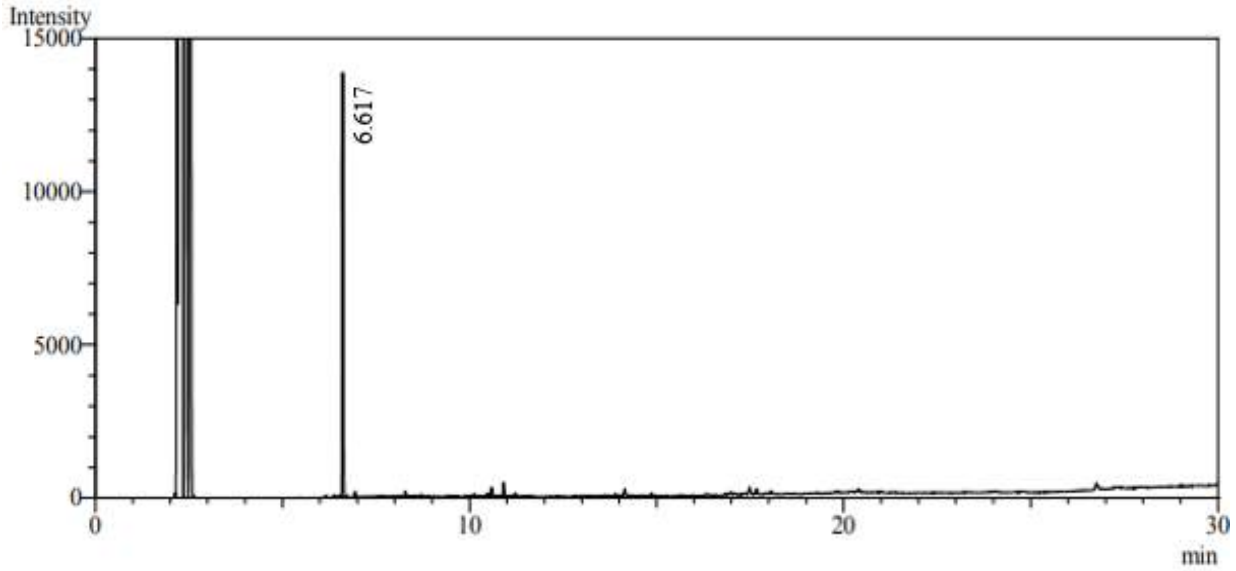


Fig. 5. Perfil GC/FID do LIN:HPβ 2:1 (RT: 6.617).

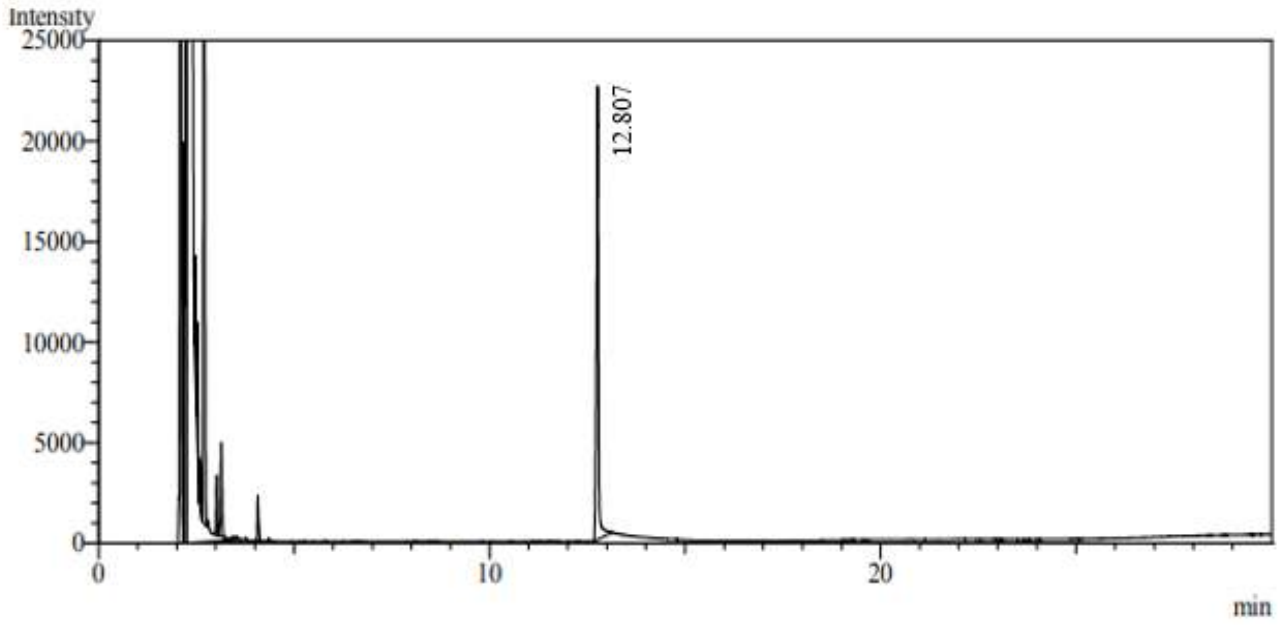


Fig. 6. Perfil GC/FID do IBU:HPβ 2:1 (RT:12.807).

Os perfis cromatográficos obtidos por GC/FID para o LIN e o IBU, tanto na forma isolada quanto complexados com HPβCD nas razões molares 1:1 e 2:1, demonstraram picos bem definidos e tempos de retenção compatíveis com os padrões analíticos, indicando que o processo de complexação não promoveu alterações estruturais ou degradação dos compostos. A manutenção dos tempos de retenção após a complexação é um achado esperado, uma vez que a técnica de GC/FID detecta preferencialmente a fração livre e volatilizável do analito, enquanto a ciclodextrina permanece na fase não volátil (Loftsson & Brewster, 2012; Del Valle, 2004).

A análise dos complexos de LIN por GC/FID permitiu determinar a concentração presente nas amostras e avaliar a eficiência da complexação. O limite de detecção (LOD) e o limite de

quantificação (LOQ) para o linalol foram 0,0741 µg/mL e 0,2472 µg/mL, respectivamente. Nas amostras analisadas, a concentração de LIN no complexo na proporção 1:1 foi de 104,27 ppm, correspondente a 20,9% do conteúdo teórico. Já no complexo 2:1, a concentração de LIN foi de 93,83 ppm, equivalente a 18,8% do conteúdo esperado, indicando uma ligeira redução na eficiência de incorporação do linalol na razão 2:1 (Tabela 2).

Tabela 2. Concentração de LIN em complexos 1:1 e 2:1 com HPβ:CD determinada por GC/FID.

Padão	**LOD (µg/mL)**	**LOQ (µg/mL)**	Sample			
			LIN 1:1		LIN 2:1	
			Ppm	%	ppm	%
Linalool	0,0741	0,2472	104,27	20,9 %	93,83	18,8 %

Com relação à análise do IBU, os valores de LOD e LOQ foram de 0,0461 µg/mL e 0,1539 µg/mL, respectivamente. Nas amostras avaliadas, a concentração de IBU no complexo 1:1 foi de 161,65 ppm, correspondendo a 32,3% do teor teórico, enquanto no complexo 2:1 observou-se uma concentração de 229,84 ppm, equivalente a 46,0% do teor esperado, evidenciando maior incorporação do fármaco na razão 2:1 (Tabela 3).

Tabela 3. Concentração de IBU em complexos 1:1 e 2:1 determinada por GC/FID.

Padrão	**LOD (µg/mL)**	**LOQ (µg/mL)**	Sample			
			IBU 1:1		IBU 2:1	
			Ppm	%	ppm	%
ibuprofeno	0,0461	0,1539	161,65	32,3 %	229,84	46,0 %

A complexação de compostos bioativos em ciclodextrinas tem sido amplamente empregada como estratégia para modificar propriedades físico-químicas sem alterar a estrutura química dos fármacos, favorecendo maior estabilidade e comportamento mais previsível em sistemas biológicos (Aiassa et al., 2023). A formação dos complexos pode influenciar não apenas a solubilidade e a proteção frente à volatilização ou degradação, mas também a liberação gradual dos compostos, o que pode repercutir na modulação de processos inflamatórios e nociceptivos (Nicolaescu et al., 2025). As análises por GC/FID demonstraram diferenças na incorporação de IBU e LIN entre as razões molares avaliadas, com maior teor de IBU detectado na razão 2:1, enquanto o LIN apresentou valores comparáveis entre as proporções testadas.

Estudos anteriores conduzidos pelo grupo mostraram que, nos modelos de dor aguda e crônica, não houve diferença estatisticamente significativa entre as razões 1:1 e 2:1, indicando que o aumento do teor incorporado não se traduz necessariamente em maior eficácia antinociceptiva, quando os fármacos são administrados em associação (Alcantara et al. 2026).

Com base nesses achados, os modelos de inflamação aguda e a avaliação do estresse oxidativo em tecidos foram conduzidos utilizando a razão molar 1:1. Essa abordagem possibilitou investigar os mecanismos envolvidos na resposta terapêutica da associação IBU + LIN e de seus respectivos complexos IBU:HPβ + LIN:HPβ, sem comprometimento da eficácia biológica.

O modelo inflamatório crônico induzido por CFA, avaliado ao longo de 21 dias, foi conduzido pelos compostos livres, e em ambas as razões molares (1:1 e 2:1) com o objetivo de verificar se, em um contexto de inflamação persistente, diferenças na incorporação dos compostos poderiam influenciar a manutenção do efeito ao longo do tempo. Essa abordagem permitiu explorar se a maior incorporação de IBU observada na razão 2:1 conferiria vantagens adicionais em modelos crônicos ou se a ação moduladora do LIN seria suficiente para sustentar a eficácia terapêutica na razão 1:1.

3.2 Edema de pata induzido por carragenina 1%

A análise temporal do edema de pata evidenciou que, nos grupos tratados com IBU, LIN e com a associação IBU + LIN, o aumento do volume da pata ocorreu de forma dependente do tempo, com redução evidente da magnitude do pico em T2, sendo essa atenuação mais pronunciada no grupo tratado com a associação (Fig. 7a). Padrão semelhante foi observado para os complexos com HPβ-CD, nos quais os tratamentos com IBU:HPβ, LIN:HPβ e, principalmente, com a associação IBU:HPβ + LIN:HPβ promoveram redução ainda mais acentuada do pico inflamatório (Fig. 7c).

Os tratamentos avaliados promoveram diferentes percentuais de inibição do edema de pata induzido por carragenina quando comparados ao grupo controle. O IBU administrado isoladamente apresentou redução de 45,40%, enquanto o LIN promoveu inibição de 30,20%. A associação entre IBU + LIN resultou em efeito antiedematogênico de 63,49%, indicando resposta superior à observada com os compostos isolados (Fig. 7 b). Em relação às formulações complexadas, o IBU:HPβ apresentou inibição de 61,60%, enquanto o LIN:HPβ reduziu o edema em 50,28%. Notavelmente, a associação dos complexos IBU:HPβ + LIN:HPβ exibiu o maior efeito entre os grupos experimentais, com 70,98% de inibição do edema, evidenciando maior eficácia terapêutica (Fig. 7d).

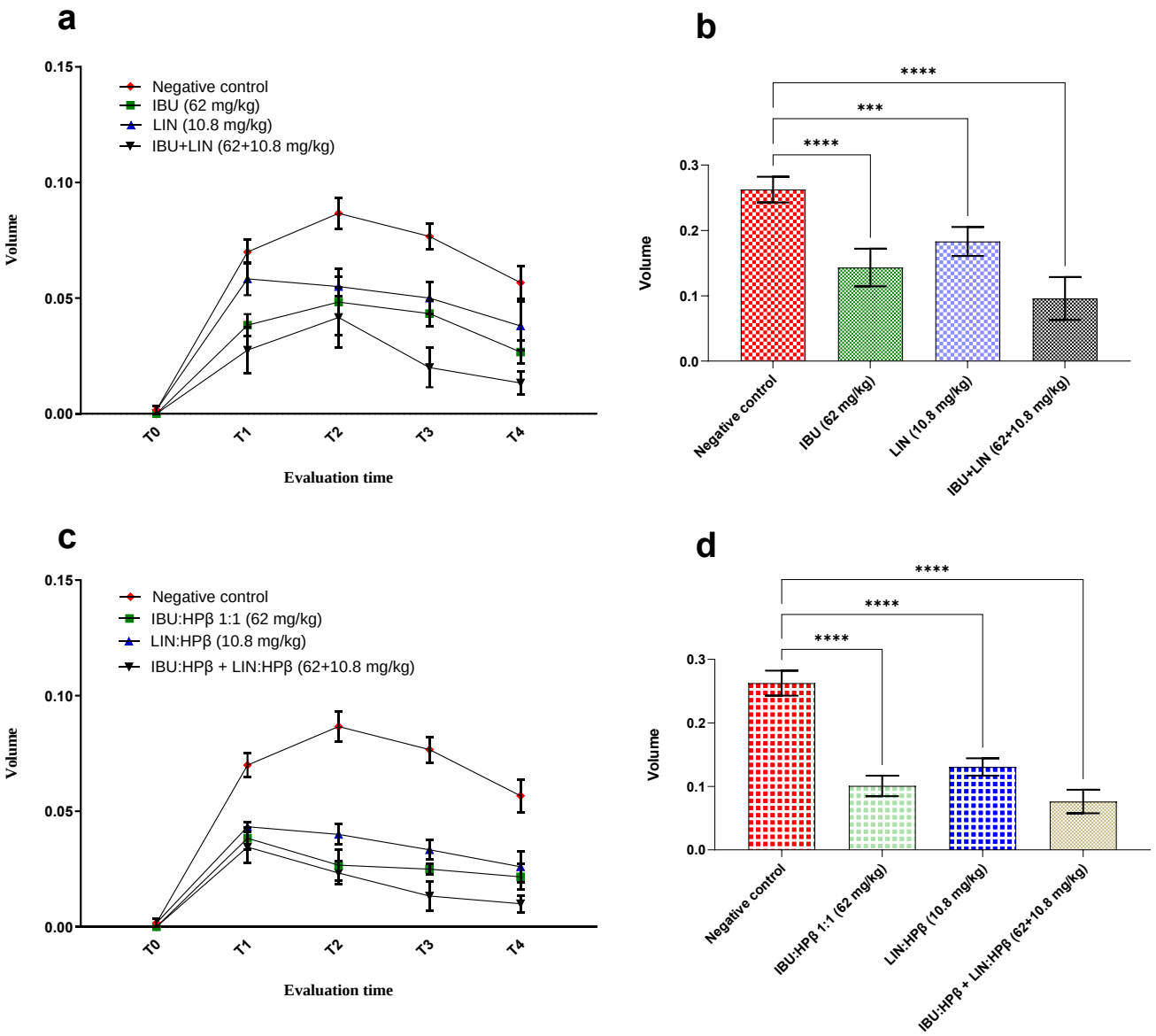


Fig. 7. Efeito do ibuprofeno (IBU, 62 mg/kg), linalool (LIN, 10,8 mg/kg), IBU + LIN (62 + 10,8 mg/kg), IBU:HPβ (62 mg/kg), LIN:HPβ (10,8 mg/kg) e IBU:HPβ + LIN:HPβ (62 + 10,8 mg/kg), na razão molar 1:1, sobre o edema de pata induzido por injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos. As figuras **(a)** e **(c)** mostram a resposta antiedematogênica dos grupos ao longo do tempo. As figuras **(b)** e **(d)** representam a média geral da resposta antiedematogênica considerando todos os tempos experimentais. Os valores são expressos como média ± E.P.M. (erro padrão da média), com n = 6 animais por grupo. A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) com modelo de efeitos mistos, seguida de teste pós-hoc de Tukey (***p < 0,001; ****p < 0,0001, em comparação com o grupo controle). T0: basal; T1: 1 h; T2: 2 h; T3: 3 h; T4: 4 h.

O modelo de edema de pata induzido por carragenina caracteriza-se por uma resposta inflamatória bifásica, em que a fase inicial (0–1 h) envolve a liberação de histamina, serotonina e bradicinina, enquanto a fase tardia (2–4 h) é predominantemente mediada por prostaglandinas, óxido

nítrico (NO), citocinas pró-inflamatórias e infiltração celular, coincidindo com o pico inflamatório do modelo experimental (Vinegar et al., 1969).

Nesse contexto, o IBU, um anti-inflamatório não esteroidal, atua principalmente na fase tardia por meio da inibição das ciclooxigenases, com consequente redução da síntese de prostaglandinas. De forma complementar, estudos de Peana et al. (2002) demonstram que o linalol promove redução significativa do edema entre 2 e 4 horas, período correspondente ao pico da inflamação, sugerindo atuação preferencial sobre mediadores dependentes de COX-2. Assim, a convergência dos mecanismos de ação do IBU e LIN sobre vias comuns da fase tardia da inflamação fornece uma base consistente para os efeitos anti-inflamatórios mais pronunciados observados quando esses compostos são administrados em associação.

3.3 Mieloperoxidase e contagem de leucócitos

A atividade da mieloperoxidase (MPO) e a contagem de leucócitos totais foram reduzidas pelos tratamentos avaliados em comparação ao controle negativo. Os compostos isolados promoveram inibição da atividade da MPO de 35,78% para o IBU, e de 47,53% para a associação IBU + LIN (Fig. 8 a). Entre as formulações complexadas com HPβCD, observou-se inibição de 41,35% para o IBU:HPβ, e de 16,91% para o LIN:HPβ, enquanto a associação IBU:HPβ + LIN:HPβ apresentou a maior redução da atividade da MPO, com inibição de 58,66% (Fig. 8 c). A redução da atividade da MPO foi acompanhada por diminuição da contagem de leucócitos totais em relação ao controle negativo (Fig. 8 b/d).

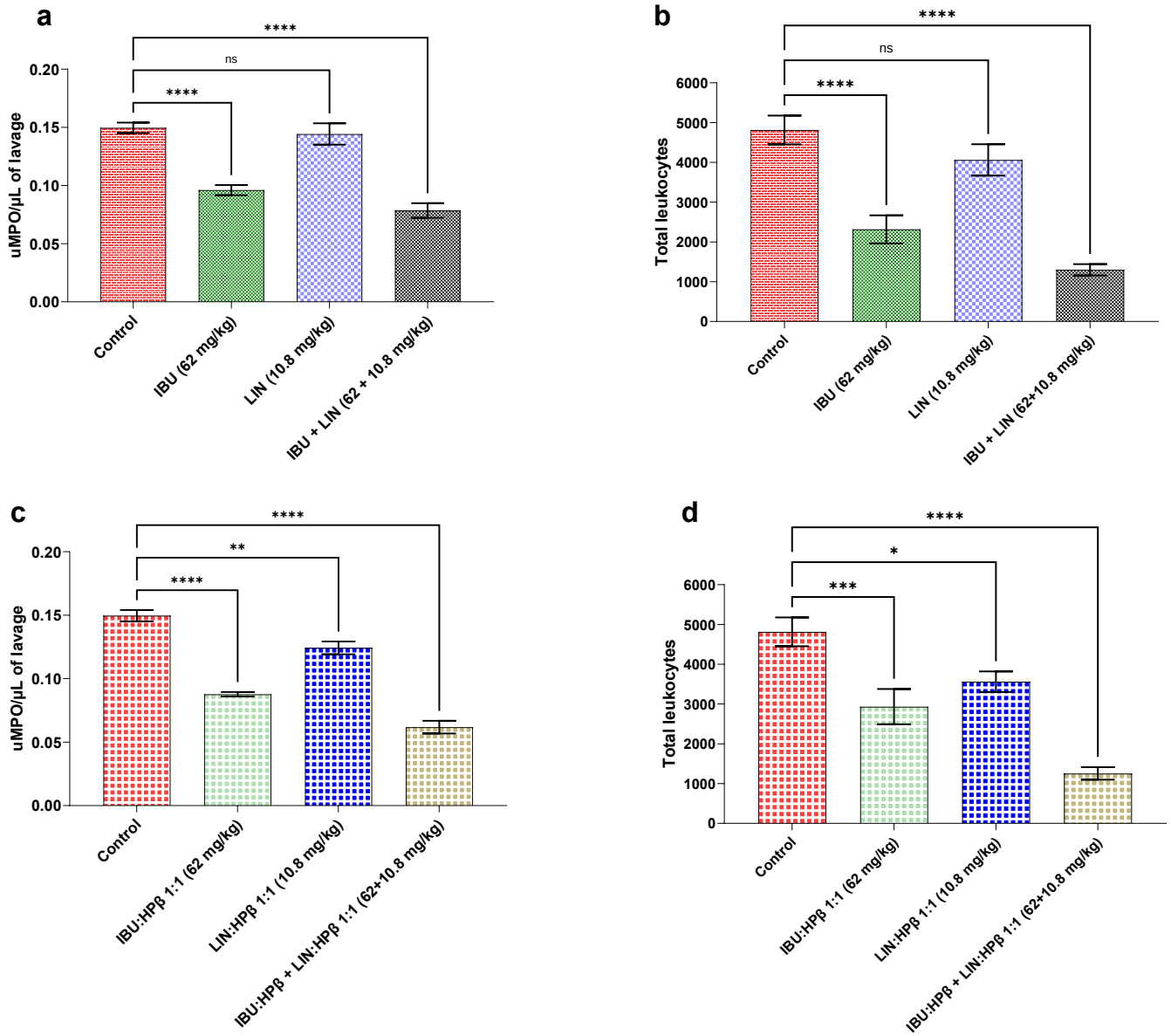


Fig. 8. Efeito do IBU (62 mg/kg), LIN (10,8 mg/kg), IBU + LIN (62 + 10,8 mg/kg), IBU:HPβ (62 mg/kg), LIN:HPβ (10,8 mg/kg) e IBU:HPβ + LIN:HPβ (62 + 10,8 mg/kg) (razão molar 1:1) a mieloperoxidase (MPO) e a contagem de leucócitos totais no lavado peritoneal. **(a)** Atividade da MPO dos compostos isolados; **(b)** Contagem de leucócitos totais dos compostos isolados; **(c)** Atividade da MPO dos compostos complexados; **(d)** Contagem de leucócitos totais dos compostos complexados. Os valores representam a média aritmética ± E.P.M. (erro padrão da média) para um grupo de seis animais. Análise de variância (ANOVA) com modelo de efeitos mistos, seguida de teste pós-hoc Tukey (*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, ****p<0,0001, NS: não significativo, comparado ao grupo controle).

A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima presente nos grânulos azurófilos dos neutrófilos, frequentemente utilizada como marcador indireto de infiltração e ativação leucocitária (Frangie; Daher, 2022). Sua atividade reflete o recrutamento de neutrófilos ao sítio inflamatório e a liberação de espécies reativas durante a resposta imune, sendo, portanto, um parâmetro importante para avaliar a intensidade da inflamação e a eficácia de potenciais agentes anti-inflamatórios (Chen et al., 2020).

A dosagem enzimática da MPO revelou uma redução significativa na atividade da enzima nas associações (IBU+LIN e IBU:HPβ + LIN:HPβ), indicando um efeito consistente na atenuação da resposta inflamatória. Essa diminuição da atividade de MPO reflete uma possível interferência na migração de neutrófilos ao sítio inflamatório, sugerindo que os tratamentos modulam os sinais quimiotáticos e os processos de ativação endotelial que direcionam a infiltração leucocitária. Esses resultados apoiam a hipótese de que a combinação de um anti-inflamatório não esteroidal com um monoterpeno bioativo pode regular tanto a produção de mediadores inflamatórios quanto os eventos celulares que perpetuam a inflamação crônica.

Corroborando os achados de Quintans et al. (2013), no modelo de peritonite induzida por carragenina, o LIN, tanto na forma isolada quanto complexado em β-ciclodextrina, reduziu significativamente a migração leucocitária e os níveis de TNF-α no líquido peritoneal, evidenciando um efeito anti-inflamatório consistente, com clara superioridade do complexo de inclusão linalol/β-CD em relação ao monoterpeno livre, sugerindo que provavelmente a complexação potencializa sua eficácia farmacológica. Esse efeito anti-inflamatório pode estar relacionado, ao menos em parte, à capacidade do linalol de inibir a produção de óxido nítrico por modulação da iNOS, conforme demonstrado por Peana et al. (2002), uma vez que a redução do NO impacta o recrutamento e a ativação de neutrófilos, modulando a permeabilidade vascular e a expressão de moléculas de adesão endotelial, o que contribui para a diminuição da atividade de MPO e do estresse oxidativo observados nos complexos LIN:HP*β* e na associação IBU:HPβ + LIN:HP*β* (1:1).

3.3 Determinação dos níveis de malondialdeído tecidual

O malondialdeído (MDA) é um marcador amplamente utilizado de estresse oxidativo, resultante da peroxidação lipídica de ácidos graxos insaturados nas membranas celulares. O IBU isolado reduziu os níveis de MDA em 27,96%, enquanto o LIN isolado não apresentou efeito significativo. A combinação dos isolados reduziu o MDA em 59,66% (fig. 9 a). Quando complexados com HP*β*CD, observou-se aumento da atividade antioxidante, o IBU complexado (1:1) reduziu os níveis de MDA em 34,94%, o LIN complexado (1:1) em 32,64%, e a associação de IBU + LIN complexados atingiu uma redução de 76,22% (Fig. 9 b). Esses resultados sugerem que a complexação com HPβCD potencializou a capacidade dos compostos de reduzir o estresse oxidativo, tanto individualmente quanto em combinação.

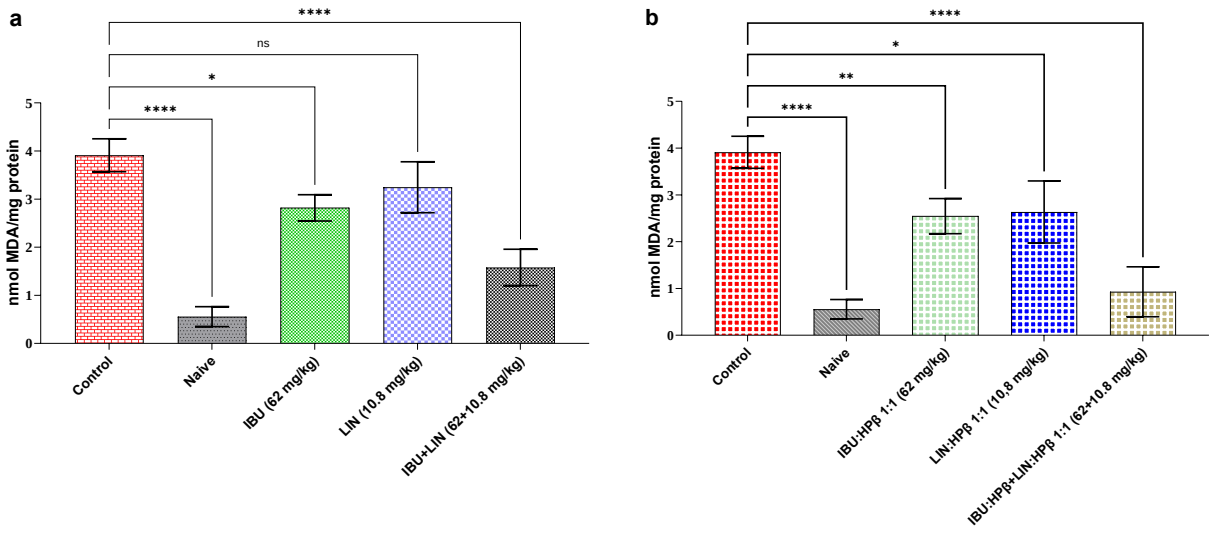


Fig. 9. Efeito do IBU (62 mg/kg), LIN (10,8 mg/kg), IBU + LIN (62 + 10,8 mg/kg), IBU:HPβ (62 mg/kg), LIN:HPβ (10,8 mg/kg) e IBU:HPβ + LIN:HPβ (62 + 10,8 mg/kg) (razão molar 1:1), sobre os níveis de malondialdeído (MDA). **(a)** Compostos isolados; **(b)** Compostos complexados com HPβCD. Os valores representam a média aritmética ± E.P.M. (erro padrão da média) para um grupo de seis animais. Análise de variância (ANOVA) com modelo de efeitos mistos, seguida de teste pós-hoc Tukey (*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001, ****p < 0,0001, *ns*: não significativo, comparado ao grupo controle).

O malondialdeído (MDA) é um dos principais produtos finais da peroxidação lipídica de ácidos graxos poli-insaturados presentes nas membranas celulares, sendo amplamente utilizado como marcador indireto de estresse oxidativo e dano tecidual (Ayla; Munoz; Arguelles, 2014). O aumento dos níveis de MDA reflete a intensificação da oxidação lipídica induzida por espécies reativas de oxigênio, um processo intimamente relacionado à amplificação da resposta inflamatória e à disfunção celular (Marnett, 1999).

A redução evidenciada dos níveis de malondialdeído (MDA) observada nesse estudo, com o tratamento combinado, indica uma atenuação mais eficiente da peroxidação lipídica, refletindo menor dano oxidativo às membranas celulares e contribuindo para a limitação da progressão do ambiente inflamatório e do comprometimento tecidual. Embora o ibuprofeno não apresente atividade antioxidante direta, sua associação com o linalol, um monoterpeno com propriedades antioxidantes bem estabelecidas (Ola; Sofolahan, 2021; Salimi et al., 2022), parece favorecer a modulação do equilíbrio redox, especialmente quando administrados na forma complexada. Esses achados sugerem que o controle do estresse oxidativo, provavelmente constitui um mecanismo complementar relevante para os efeitos anti-inflamatórios observados nos tratamentos associados.

3.1 Efeito antiedematogênico induzido pelo Adjuvante Completo de Freud

A avaliação do edema ao longo de 21 dias mostrou que todos os tratamentos reduziram significativamente o aumento percentual de edema em relação ao controle. Na Fig. 10 a, observa-se a evolução temporal do edema em cada grupo, enquanto a Fig. 10 b apresenta a área sob a curva (AUC), evidenciando a magnitude do efeito. O ibuprofeno (IBU, 62 mg/kg) e o linalool (LIN, 10,8 mg/kg) isoladamente reduziram o edema em 27,85% e 18,13%, respectivamente. A associação IBU + LIN (62 + 10,8 mg/kg) proporcionou a maior redução, com 54,36%, confirmando a superior eficácia da combinação.

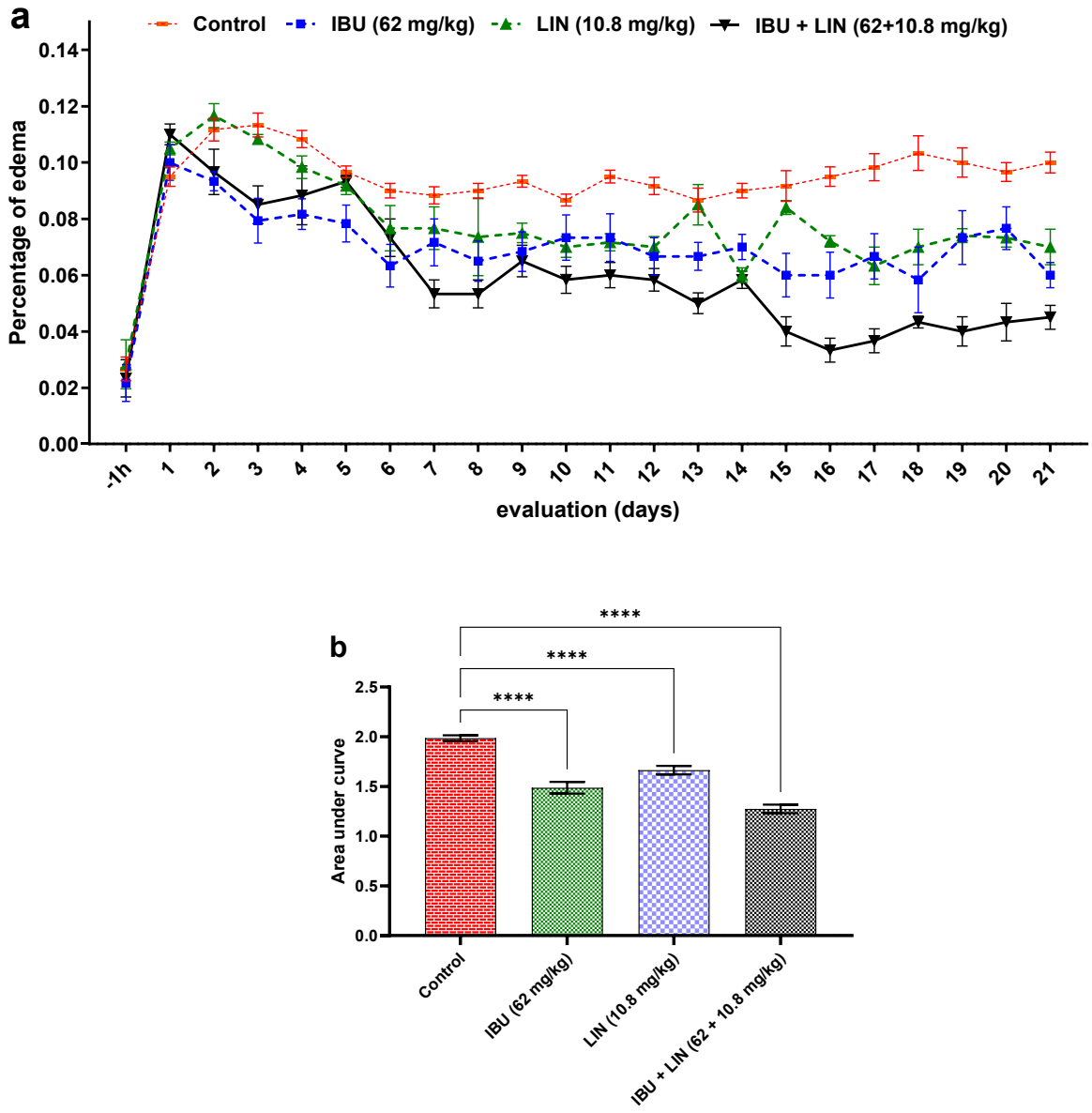


Fig. 10. Efeito do IBU (62 mg/kg), LIN (10,8 mg/kg) e da associação IBU+LIN (62 + 10,8 mg/kg) sobre o edema ao longo de 21 dias. **(a)** Evolução temporal do percentual de edema avaliada por gráfico de linhas; **(b)** Área sob a curva (AUC) do edema representada em gráfico de barras. Os valores representam a média aritmética ± E.P.M. (erro padrão da

média) para um grupo de seis animais. Análise de variância (ANOVA) com modelo de efeitos mistos, seguida de teste pós-hoc Dunnett (****p<0,0001, comparado ao grupo controle).

A avaliação do edema após os tratamentos com os complexos em HPβCD na razão molar 1:1 mostrou que todos os tratamentos reduziram significativamente o aumento percentual de edema em relação ao grupo controle. O IBU:HPβ apresentou redução de 31,58%, enquanto o LIN:HPβ promoveu redução de 20,13%. Notavelmente, a associação IBU:HPβ + LIN:HPβ apresentou a maior inibição, com 58,32%, evidenciando o efeito potencializado da combinação em comparação aos complexos isolados (Figura 11 a/b).

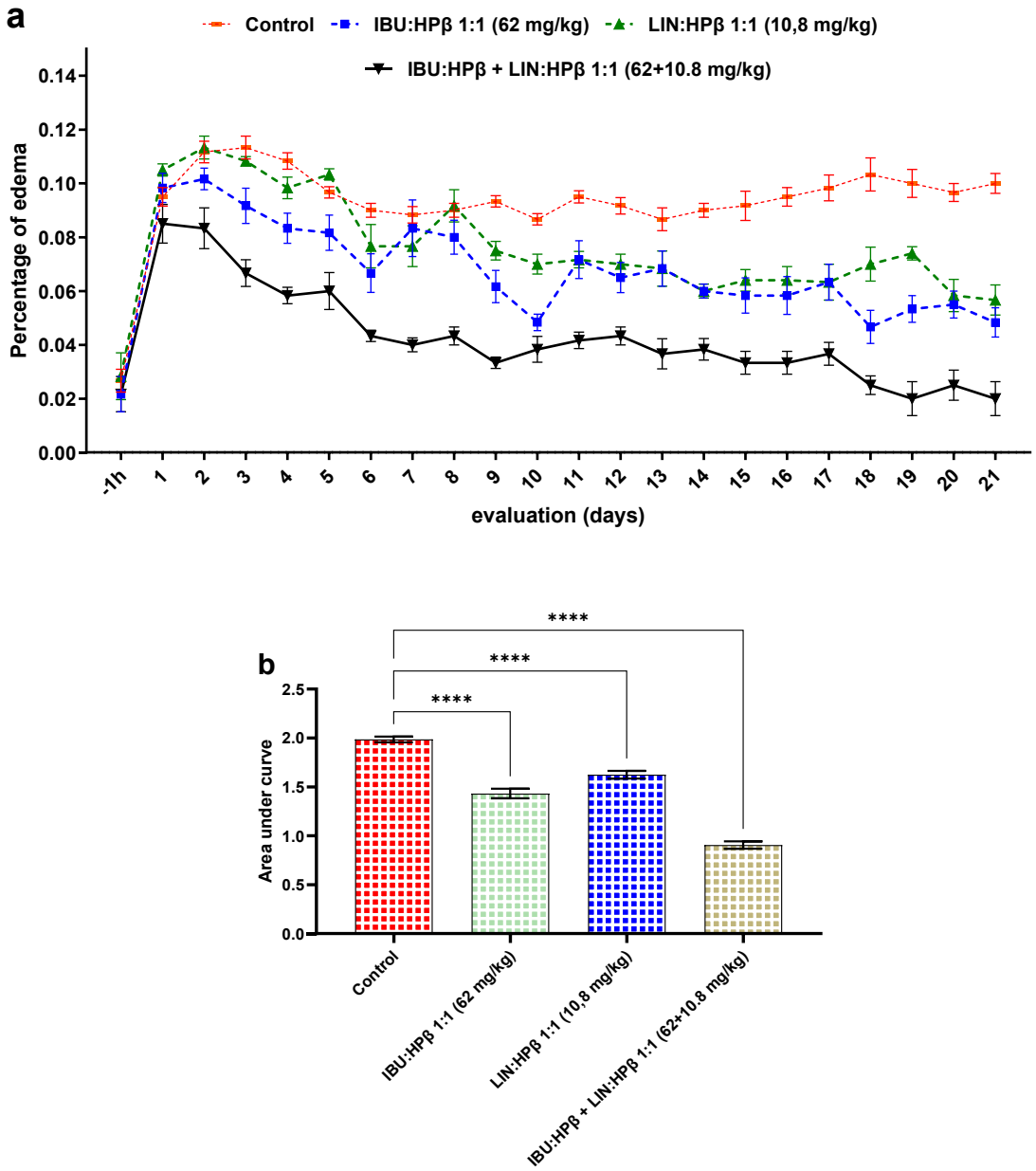


Fig. 11. Efeito dos complexos IBU:HPβ (62 mg/kg), LIN:HPβ (10,8 mg/kg) e da associação IBU:HPβ + LIN:HPβ (62+10,8 mg/kg), na razão molar 1:1 sobre o edema ao longo de 21 dias. **(a)** Evolução temporal do percentual de edema avaliada por gráfico de linhas; **(b)** Área sob a curva (AUC) do edema representada em gráfico de barras. Os valores

representam a média aritmética ± E.P.M. (erro padrão da média) para um grupo de seis animais. Análise de variância (ANOVA) com modelo de efeitos mistos, seguida de teste pós-hoc Dunnett (****p<0,0001, comparado ao grupo controle).

Com relação aos complexos em HPβCD na razão molar 2:1, estes também apresentaram efeito antiedematogênico ao longo do período de 21 dias. A análise da evolução temporal do edema mostrou que o IBU:HPβ promoveu uma redução de 30,52%, enquanto o LIN:HPβ apresentou 19,17% de inibição. A associação dos dois complexos, IBU:HPβCD + LIN:HPβCD, resultou em 55,45% de redução do edema (Figura 12 a/b).

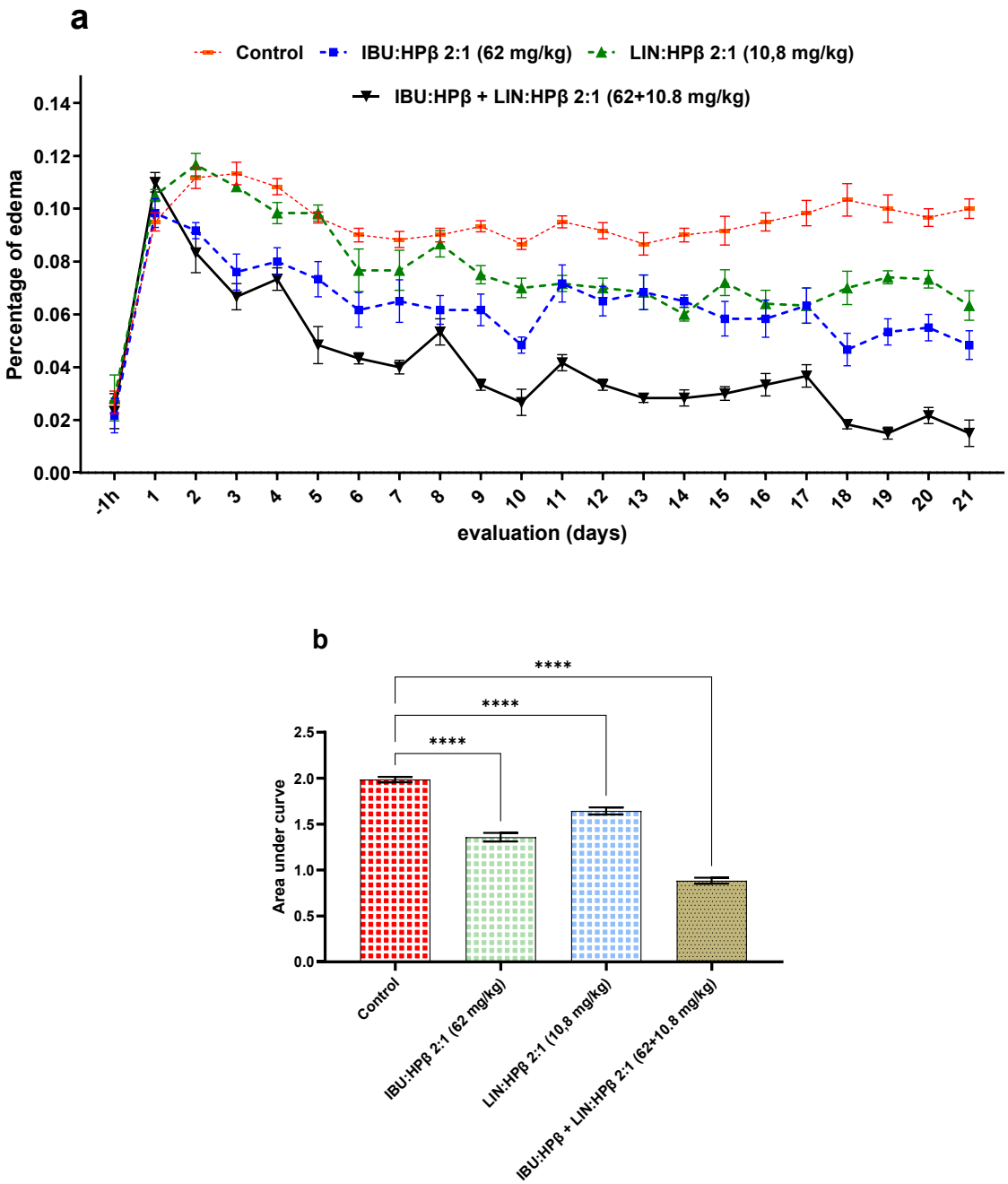


Figura 12. Efeito dos complexos IBU:HPβ (62 mg/kg), LIN:HPβ (10,8 mg/kg) e da associação IBU:HPβ + LIN:HPβ (62+10,8 mg/kg), na razão molar 2:1 sobre o edema ao longo de 21 dias. **(a)** Evolução temporal do percentual de edema avaliada por gráfico de linhas; **(b)** Área sob a curva (AUC) do edema representada em gráfico de barras. Os valores representam a média aritmética ± E.P.M. (erro padrão da média) para um grupo de seis animais. Análise de variância (ANOVA) com modelo de efeitos mistos, seguida de teste pós-hoc Dunnett (****p<0,0001, comparado ao grupo controle).

A associação de compostos bioativos tem sido amplamente investigada como uma estratégia terapêutica para o tratamento de condições inflamatórias e dolorosas, especialmente em modelos de inflamação persistente. Evidências experimentais indicam que a combinação de fármacos sintéticos com compostos naturais pode produzir efeitos superiores aos observados com os tratamentos isolados, em função da atuação concomitante sobre múltiplas vias fisiopatológicas (Yousaf et al., 2022a). Essa abordagem permite modular mediadores inflamatórios, permeabilidade vascular, recrutamento celular e estresse oxidativo, além de possibilitar a redução das doses individuais e, potencialmente, dos efeitos adversos associados aos anti-inflamatórios convencionais (Atanasov et al., 2021).

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a associação entre IBU e LIN, especialmente quando ambos se encontram complexados em HPβCD, promove uma modulação mais ampla e eficaz da resposta inflamatória induzida por CFA do que os tratamentos isolados. Essa superioridade pode ser atribuída à atuação complementar das substâncias avaliadas sobre diferentes eixos da inflamação, aliada à melhora das propriedades farmacocinéticas proporcionada pela complexação.

No modelo inflamatório crônico induzido por CFA, a resposta inflamatória envolve uma fase vascular inicial, caracterizada pelo aumento da permeabilidade capilar e formação de edema, seguida por uma fase celular, marcada pelo recrutamento e ativação de leucócitos e pela produção de mediadores pró-inflamatórios e espécies reativas de oxigênio (Billiau; Matthys, 2001).

Nesse contexto, a associação de IBU e LIN, tanto isolados, quanto complexados em HPβCD, promoveram uma redução significativa do edema ao longo dos dias avaliados, sugerindo uma atuação integrada tanto sobre os eventos vasculares iniciais quanto sobre os mecanismos celulares responsáveis pela manutenção da inflamação crônica. Enquanto o IBU atua predominantemente por meio da inibição da síntese de prostaglandinas via bloqueio da ciclooxigenase (Ricciotti; Fitzgerald, 2011), evidencias experimentais pré-clínicas demonstram que o LIN contribui modulando vias adicionais, incluindo a produção de citocinas pró-inflamatórias, a excitabilidade neuronal e o estresse oxidativo (Batista et al., 2008; Peana et al., 2004). Dessa forma, a associação não apenas reduz a geração de mediadores inflamatórios clássicos, mas também interfere em mecanismos centrais que sustentam a inflamação persistente.

4. Conclusão

A associação de ibuprofeno (IBU) e linalool (LIN), especialmente quando complexados em hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD), apresentou efeito anti-inflamatório superior ao dos compostos administrados isoladamente, promovendo redução significativa do recrutamento leucocitário, da atividade da mieloperoxidase, dos níveis de malondialdeído e no edema nos modelos de inflamação aguda e crônica avaliados. A complexação em HPβCD potencializou a biodisponibilidade e a liberação dos compostos, contribuindo para uma modulação mais eficaz de eventos vasculares, celulares e do estresse oxidativo. Estes achados indicam que a combinação de fármacos anti-inflamatórios convencionais com monoterpenos bioativos pode ser uma estratégia promissora para o controle de processos inflamatórios persistentes. No entanto, estudos adicionais de mecanismos, farmacocinética, toxicidade são necessários para validar sua eficácia e segurança antes de futuras aplicações clínicas.

Referências

Adams, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. 4.1. ed. IL, USA: Allured Publishing Corporation, 2017.

Ahammed, S., Chowdhury, R., Al Hasan, M.S., Mia, E., Akbor, M.S., Islam, M.T., Chowdhury, R.I., Hossain, M.S., Ansari, I.A., Ansari, S.A., 2025. Anti-arthritic potential of linalool: in vitro, in vivo, and in silico mechanistic insights for safer therapeutic applications. Naunyn. Schmiedebergs. *Arch. Pharmacol*. 1–17.

Aiassa V, Garnero C, Zoppi A, Longhi MR. Cyclodextrins and Their Derivatives as Drug Stability Modifiers. *Pharmaceuticals*. 2023; 16(8):1074. https://doi.org/10.3390/ph16081074

Ainyanbhor, I.E., Edo, G.I., Ali, A.B.M., Akpoghelie, P.O., Akpo, M.O., Yousif, E., Owheruo, J.O., Igbuku, U.A., Obayomi, O.V., Essaghah, A.E.A., 2025. Ibuprofen: A review on its synthesis, mechanism of action, pharmacological properties, and environmental impact. *Pharmacol. Res*. 100066.

Atanasov, A.G., Zotchev, S.B., Dirsch, V.M., Supuran, C.T., 2021. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. Nat. Rev. *Drug Discov*. 20, 200–216.

Ayala, Antonio; MUÑOZ, Mario F.; ARGÜELLES, Sandro. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, v. 2014, n. 1, p. 360438, 2014.

Batista, P.A., de Paula Werner, M.F., Oliveira, E.C., Burgos, L., Pereira, P., da Silva Brum, L.F., Story, G.M., Santos, A.R.S., 2010. The antinociceptive effect of (−)-linalool in models of chronic inflammatory and neuropathic hypersensitivity in mice. *J. Pain* 11, 1222–1229.

Batista, P.A., Werner, M.F. de P., Oliveira, E.C., Burgos, L., Pereira, P., Brum, L.F. da S., Santos, A.R.S. dos, 2008. Evidence for the involvement of ionotropic glutamatergic receptors on the antinociceptive effect of (−)-linalool in mice. *Neurosci. Lett*. 440, 299–303. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.05.092

Billiau, A., Matthys, P., 2001. Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. *J. Leukoc*. Biol. 70, 849–860.

Boța, M., Vlaia, L., Jîjie, A.-R., Marcovici, I., Crișan, F., Oancea, C., Dehelean, C.A., Mateescu, T., Moacă, E.-A., 2024. Exploring Synergistic Interactions between Natural Compounds and Conventional Chemotherapeutic Drugs in Preclinical Models of Lung Cancer. *Pharmaceuticals*. https://doi.org/10.3390/ph17050598

Bradley, P., Christensen, R., Rothstein, G., 1982. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. *Blood.* 60, 618–622. https://doi.org/10.1182/blood.V60.3.618.618

Celebioglu, A., Uyar, T., 2019. Fast Dissolving Oral Drug Delivery System Based on Electrospun Nanofibrous Webs of Cyclodextrin/Ibuprofen Inclusion Complex Nanofibers. *Mol. Pharm*. 16, 4387–4398. https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00798

Chen, S., Chen, H., Du, Q., Shen, J., 2020. Targeting myeloperoxidase (MPO) mediated oxidative stress and inflammation for reducing brain ischemia injury: potential application of natural compounds. Front. *Physiol*. 11, 433.

De Souza, G.E.P., Ferreira, S.H., 1985. Blockade by antimacrophage serum of the migration of PMN neutrophils into the inflamed peritoneal cavity. *Agents Actions* 17, 97–103.

Del Valle EM. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*. 2004;39(9):1033–1046. doi:10.1016/S0032-9592(03)00258-9

Forrester, S.J., Kikuchi, D.S., Hernandes, M.S., Xu, Q., Griendling, K.K., 2018. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circ. Res.* 122, 877–902.

Frangie, C., Daher, J., 2022. Role of myeloperoxidase in inflammation and atherosclerosis. Biomed. reports 16, 53.

Goswami, A.K., Sarma, A., Ahmed, S., Das, B.K., 2025. Linalool in chronic diseases: A comprehensive review of its pharmacological potential and delivery aspects. *Fitoterapia* 106754.

Götz, M.E., Dirr, A., Freyberger, A., Burger, R., Riederer, P., 1993. The thiobarbituric acid assay reflects susceptibility to oxygen induced lipid peroxidation in vitro rather than levels of lipid hydroperoxides in vivo: a methodological approach. *Neurochem*. Int. 22, 255–262.

Hore, Z., Denk, F., 2019. Neuroimmune interactions in chronic pain–an interdisciplinary perspective. Brain. Behav. *Immun*. 79, 56–62.

Kim, M.-G., Kim, S.-M., Min, J.-H., Kwon, O.-K., Park, M.-H., Park, J.-W., Ahn, H.I., Hwang, J.-Y., Oh, S.-R., Lee, J.-W., 2019. Anti-inflammatory effects of linalool on ovalbumin-induced pulmonary inflammation. Int. *Immunopharmacol*. 74, 105706.

Leyane, T.S., Jere, S.W., Houreld, N.N., 2022. Oxidative stress in ageing and chronic degenerative pathologies: molecular mechanisms involved in counteracting oxidative stress and chronic inflammation. Int. *J. Mol. Sci*. 23, 7273.

Li, X., Peng, X., Zoulikha, M. *et al.* Multifunctional nanoparticle-mediated combining therapy for human diseases. *Sig Transduct Target Ther* 9, 1 (2024). https://doi.org/10.1038/s41392-023-01668-1

Loftsson T, Brewster ME. Cyclodextrins as functional excipients: methods to enhance complexation efficiency. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;101(9):3019–3032. doi:10.1002/jps.23077

Marnett, L.J., 1999. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen. 424, 83–95.

Martinov, T., Mack, M., Sykes, A., Chatterjea, D., 2013. Measuring changes in tactile sensitivity in the hind paw of mice using an electronic von Frey apparatus. J. Vis. Exp. 1–6. https://doi.org/10.3791/51212

Nicolaescu OE, Belu I, Mocanu AG, Manda VC, Rău G, Pîrvu AS, Ionescu C, Ciulu-Costinescu F, Popescu M, Ciocîlteu MV. Cyclodextrins: Enhancing Drug Delivery, Solubility and Bioavailability for Modern Therapeutics. *Pharmaceutics*. 2025 Feb 22;17(3):288. doi: 10.3390/pharmaceutics17030288.

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem*. 95, 351–358.

Ola, O.S., Sofolahan, T.A., 2021. A monoterpene antioxidant, linalool, mitigates benzene-induced oxidative toxicities on hematology and liver of male rats. *Egypt. J. Basic Appl*. Sci. 8, 39–53.

Peana, A.T., Graziella De Montis, M., Sechi, S., Sircana, G., D'Aquila, P.S., Pippia, P., 2004. Effects of (−)-linalool in the acute hyperalgesia induced by carrageenan, L-glutamate and prostaglandin E2. *Eur. J. Pharmacol*. 497, 279–284. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.06.006

PEANA, Alessandra Tiziana et al. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, v. 9, n. 8, p. 721-726, 2002.

QUINTANS-JÚNIOR, Lucindo J. et al. β-Cyclodextrin-complexed (−)-linalool produces antinociceptive effect superior to that of (−)-linalool in experimental pain protocols. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, v. 113, n. 3, p. 167-172, 2013.

Ricciotti, E., FitzGerald, G.A., 2011. Prostaglandins and inflammation. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 31, 986–1000.

Rodríguez-López, M.I., Mercader-Ros, M.T., Lucas-Abellán, C., Pellicer, J.A., Pérez-Garrido, A., Pérez-Sánchez, H., Yáñez-Gascón, M.J., Gabaldón, J.A., Núñez-Delicado, E., 2020. Comprehensive characterization of linalool-HP-β-cyclodextrin inclusion complexes. *Molecules* 25, 5069.

Salimi, A., Khodaparast, F., Bohlooli, S., Hashemidanesh, N., Baghal, E., Rezagholizadeh, L., 2022. Linalool reverses benzene-induced cytotoxicity, oxidative stress and lysosomal/mitochondrial damages in human lymphocytes. *Drug Chem. Toxicol*. 45, 2454–2462.

Seol, G.-H., Kang, P., Lee, H.S., Seol, G.H., 2016. Antioxidant activity of linalool in patients with carpal tunnel syndrome. *BMC Neurol*. 16, 17.

Shi, F., Zhao, Y., Firempong, C.K., Xu, X., 2016. Preparation, characterization and pharmacokinetic studies of linalool-loaded nanostructured lipid carriers. *Pharm. Biol*. 54, 2320–2328. https://doi.org/10.3109/13880209.2016.1155630

Souto-Maior, F.N., Fonsêca, D.V. da, Salgado, P.R.R., Monte, L. de O., de Sousa, D.P., de Almeida, R.N., 2017. Antinociceptive and anticonvulsant effects of the monoterpene linalool oxide. *Pharm. Biol*. 55, 63–67.

Tena, B., Escobar, B., Arguis, M.J., Cantero, C., Rios, J., Gomar, C., 2012. Reproducibility of electronic von Frey and von Frey monofilaments testing. *Clin. J. Pain* 28, 318–323.

Van Den Dool, H.; Kratz, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*, 11, 463–471, 1963. https://doi.org/10.1016/S0021- 9673(01)80947-X

Vinegar, R.; Schreiber, W.; Hugo, R. Biphasic development of carrageenin edema in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 166, n. 1, p. 96-103, 1969.

Wi, T.I., Won, J.E., Lee, C.M., Lee, J.-W., Kang, T.H., Shin, B.C., Han, H.D., Park, Y.-M., 2020. Efficacy of combination therapy with linalool and doxorubicin encapsulated by liposomes as a two-in-one hybrid carrier system for epithelial ovarian carcinoma. *Int. J. Nanomedicine* 8427–8436.

Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1962;111(3):544-547. doi:10.3181/00379727-111-27849

Yousaf, M., Razmovski-Naumovski, V., Zubair, M., Chang, D., Zhou, X., 2022. Synergistic effects of natural product combinations in protecting the endothelium against cardiovascular risk factors. J. *Evidence-Based Integr. Med*. 27, 2515690X221113327.

Zhang, M., Xia, F., Xia, S., Zhou, W., Zhang, Y., Han, X., Zhao, K., Feng, L., Dong, R., Tian, D., 2022. NSAID-associated small intestinal injury: an overview from animal model development to pathogenesis, treatment, and prevention. *Front. Pharmacol*. 13, 818877.

Zhou, W.Z., Zhao, T.Y., Wang, Z.Y., Lu, G.Y., Zhang, S.Z., Zhang, C., Wu, N., Li, J., 2019. Synergistic antinociception between ZC88, an N-type voltage-dependent calcium channel blocker, and ibuprofen in mouse models of visceral and somatic inflammatory pain. Eur. J. Pain 23, 46–56. https://doi.org/10.1002/ejp.1281

No âmbito do desenvolvimento tecnológico decorrente desta tese, foi depositado um pedido de patente intitulado *"Composições farmacêuticas anti-inflamatórias e analgésicas: sinergismo, solubilidade e processo de obtenção para o tratamento da dor aguda e crônica"*. A invenção refere-se ao uso combinado de ibuprofeno, um anti-inflamatório não esteroidal, e linalol, um monoterpeno com propriedades analgésicas, ambos complexados separadamente com hidroxipropil-β-ciclodextrina, com o objetivo de potencializar o efeito antinociceptivo.

A proposta tecnológica se baseia no aumento da solubilidade dos princípios ativos e no potencial incremento da biodisponibilidade e da eficácia terapêutica, resultando em efeito analgésico superior no manejo da dor aguda e crônica, conforme demonstrado em modelos experimentais.

O pedido de patente abrange ainda o processo de obtenção dos complexos de inclusão, bem como sua aplicação no tratamento de condições inflamatórias e dolorosas. Para fins de registro e consulta, o protocolo do pedido de patente encontra-se descrito no Anexo III.

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

870250096954
23/10/2025 14:39
29409162339522974

Pedido nacional de invenção; Pedido nacional de modelo de utilidade; Pedido nacional de certificado de adição de invenção; e Entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2025 023044 5

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica
CPF/CNPJ: 01567601000143
Nacionalidade: Brasileira
Endereço: UFG, PRÉDIO DA REITORIA, CAMPUS SAMAMBAIA
Cidade: Goiânia
Estado: GO
CEP: 74690-900
País: Brasil
Telefone: (62)3521 2043
Fax: (62)3521 2023
Email: dpitt.ufg@gmail.com

Depositante 2 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI (URCA)

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 06740864000126

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua Antônio Luiz, 1161, Pimenta

Cidade: Crato

Estado: CE

CEP: 63105-000

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: nit@urca.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS ANTI-INFLAMATÓRIAS E ANALGÉSICAS: SINERGISMO, SOLUBILIDADE, E PROCESSO DE OBTENÇÃO PARA O TRATAMENTO DA DOR AGUDA E CRÔNICA

Resumo: A presente invenção refere-se ao uso combinado de ibuprofeno, um anti-inflamatório não esteroidal, e linalol, um monoterpeno com propriedades analgésicas, complexados separadamente com hidroxipropil-ß-ciclodextrina (HP-ß-CD) para melhorar o efeito antinociceptivo. A administração conjunta de ibuprofeno e linalol, cada um complexado com HP-ß-CD em proporções molares específicas, resulta em uma solubilidade aumentada, com potencial aumento da biodisponibilidade e eficácia terapêutica superior comprovada no manejo da dor aguda e crônica. A administração combinada tanto dos ativos isolados quanto dos ativos complexados, em comparação com a administração separada, proporciona um efeito antinociceptivo significativamente aprimorado em modelos de dor. A invenção abrange também o método de preparação dos complexos, utilizando técnicas de complexação por ultrassonicação e evaporação de solvente, e sua aplicação para o tratamento de condições inflamatórias e dolorosas.

Figura a publicar: 02

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 5

Nome: RICARDO NEVES MARRETO

CPF: 83221662149

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: RUA AMELIA ARTIAGA JARDIM, N. 80. ED. HIT MARISTA, APT 1804. SETOR MARISTA

Cidade: Goiânia

Estado: GO

CEP: 74180-070

País: BRASIL

Telefone: (62) 981 595972

Fax:

Email: ricardomarreto@ufg.br

Inventor 2 de 5

Nome: STEPHANIA FLEURY TAVEIRA

CPF: 99342235115

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: RUA 1124, 273

Cidade: Goiânia

Estado: GO

CEP: 74175-080

País: BRASIL

Telefone: (62) 320 96519

Fax:

Email: stephaniafleury@gmail.com

Inventor 3 de 5

Nome: GLEIDSON CARDOSO

CPF: 65641051268

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: R 226. QD 84. LT 23. N 230

Cidade: Goiânia

Estado: GO

CEP: 74610-130

País: BRASIL

Telefone: (62) 981 278036

Fax:

Email: gleidsoncardoso.gc@gmail.com

Inventor 4 de 5

Nome: IRWIN ROSE ALENCAR DE MENEZES

CPF: 88093085491

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: RUA CEL ANTÔNIO LUÍS 1161, PIMENTA

Cidade: Crato

Estado: CE

CEP: 63105-000

País: BRASIL

Telefone: (88) 882 97247

Fax:

Email: irwin.alencar@urca.br

Inventor 5 de 5

Nome: ISABEL SOUSA ALCANTARA

CPF: 05699888373

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Doutorando

Endereço: SARGENTO GEORGE TELES SAMPAIO, 1471, VILA ALTA

Cidade: Crato

Estado: CE

CEP: 63113-535

País: BRASIL

Telefone: (88) 222 22222

Fax:

Email: isabel.alcantara@urca.br

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Resumo	resumo_patente_ibuprofeno_REV.pdf
Relatório Descritivo	relatorio_descritivo_patente_ibuprofeno_revisado1.pdf
Reivindicação	reivindicações patente_ibuprofeno-linalol_reivindica____es_REV.pdf
Desenho	DESENHOS_patente_ibuprofeno1.pdf
Procuração	Procuração UFG-URCA 03.07.25.pdf

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 ASPECTOS GERAIS DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA

A presente tese buscou avançar no entendimento das propriedades farmacológicas da combinação de linalol e ibuprofeno, bem como de seus complexos de inclusão em ciclodextrinas, destacando seu potencial para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. Ao longo deste trabalho, foi conduzido um esforço sistemático para integrar diferentes abordagens experimentais, desde a preparação e caracterização físico-química dos complexos até a avaliação de suas atividades biológicas em modelos animais.

Os resultados obtidos reforçam a relevância de estratégias terapêuticas baseadas na combinação de compostos naturais e sintéticos, as quais podem contribuir para a redução da tolerância medicamentosa, o aumento da eficácia terapêutica e a diminuição da incidência de efeitos adversos quando comparadas ao uso de fármacos isolados. Além disso, os achados contribuem para a ampliação do conhecimento sobre o papel de terpenos como o linalol e suas interações sinérgicas com anti-inflamatórios convencionais, evidenciando o impacto positivo dessas combinações sobre a biodisponibilidade e a eficácia terapêutica.

Durante o desenvolvimento desta pesquisa, foram produzidos resultados que culminaram em manuscritos científicos submetidos e em elaboração, incluindo estudos experimentais e revisões sistemáticas. Essa produção científica reflete a complexidade e o caráter interdisciplinar da pesquisa, evidenciando o potencial do tema para aplicação clínica e inovação tecnológica, com destaque para a patente depositada relacionada ao uso combinado de linalol e ibuprofeno.

A hipótese inicial levantada neste estudo foi confirmada, demonstrando que linalol e ibuprofeno, quando utilizados em doses reduzidas, possuem a capacidade de otimizar o efeito farmacológico. Essa interação resultou em uma melhora do efeito antinociceptivo, além de uma possível redução dos possíveis efeitos adversos associados ao uso isolado de doses mais elevadas dessas substâncias.

A pesquisa também trouxe contribuições relevantes para o avanço da ciência no campo da farmacologia e toxicologia, apontando novas perspectivas para o uso de complexos de inclusão em estratégias terapêuticas. Por fim, os resultados obtidos, aliados à produção científica derivada, demonstram o impacto positivo na consolidação deste trabalho, orientada pela busca de soluções eficazes para o tratamento de condições inflamatórias e dolorosas.

5.2 CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que a complexação dos compostos linalol (LIN) e ibuprofeno (IBU) com HPβCD aumentou significativamente o efeito analgésico/anti-inflamatório e antioxidante em modelos agudos e subcrônicos. Os ensaios *in vitro* indicaram que a solubilidade e a liberação dos fármacos a partir do complexo na proporção molar de 1:1 foram consideravelmente maiores em comparação aos fármacos isolados e aos complexos na proporção de 2:1. Esse aumento na solubilidade e liberação sugere uma melhoria no perfil farmacocinético dos compostos, o que poderia contribuir para um efeito terapêutico mais eficaz.

Por outro lado, os experimentos *in vivo* mostraram que a combinação de LIN e IBU apresentou o melhor desempenho em termos de efeito analgésico e anti-inflamatório. Contudo, a redução dos efeitos observados quando os complexos de ambos os compostos foram administrados simultaneamente sugere a necessidade de investigações mais aprofundadas. Ou seja, isso pode indicar que a interação entre os compostos ocorre por mecanismos distintos ou que envolvem diferentes receptores, em comparação com a ação isolada de cada substância. Esses resultados ressaltam a importância de futuros estudos para esclarecer os mecanismos moleculares específicos envolvidos.

5.3 PERSPECTIVAS DE INVESTIGAÇÕES FUTURAS

A comprovação científica das atividades biológicas de moléculas bioativas provenientes de produtos naturais é essencial para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Embora a indústria farmacêutica continue a oferecer uma ampla gama de medicamentos, é crucial a busca por agentes que combinem os benefícios dos fármacos sintéticos com as propriedades terapêuticas dos compostos naturais. Dessa forma, isso inclui a identificação de combinações que ofereçam maior biodisponibilidade, menor toxicidade e efeitos colaterais reduzidos, além de uma relação custo-benefício mais vantajosa.

No primeiro manuscrito, que consistiu em uma revisão sistemática, foram analisados estudos sobre a associação de produtos naturais com fármacos, destacando-se os efeitos sinérgicos na redução de processos inflamatórios, cancerígenos, antimaláricos, gastroprotetores e analgésicos. Os resultados sugerem que essas combinações constituem estratégias promissoras para o desenvolvimento de novas terapias, embora ainda existam lacunas importantes a serem investigadas em estudos futuros.

No segundo manuscrito, os dados apresentados sugerem que a combinação de linalol e ibuprofeno, assim como seus complexos de inclusão em ciclodextrinas, representam potenciais agentes farmacológicos, especialmente como fontes para o desenvolvimento de novos analgésicos com relevância clínica. Entretanto, há ainda muitos aspectos a serem investigados.

No terceiro manuscrito, foram investigados os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes da combinação de ibuprofeno e linalol, isolados e complexados em HPβCD. Os resultados demonstraram que as associações reduziram o edema, o recrutamento leucocitário, a atividade da mieloperoxidase e os níveis de malondialdeído, refletindo menor infiltração celular e estresse oxidativo. Ainda há a necessidade de estudos adicionais, como a dosagem de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, incluindo TNF-α, IL-1β, IL-6 e IL-10, a fim de elucidar os mecanismos de ação envolvidos.

Ademais, foi depositado um pedido de patente intitulado "Composições farmacêuticas anti-inflamatórias e analgésicas: sinergismo, solubilidade e processo de obtenção para o tratamento da dor aguda e crônica", que descreve a utilização combinada de linalol e ibuprofeno, ambos complexados individualmente com ciclodextrinas, com o objetivo de aumentar a solubilidade, a biodisponibilidade e a eficácia terapêutica. Este depósito reflete o potencial inovador da pesquisa e evidencia a relevância prática da associação de terpenos e fármacos no manejo de condições inflamatórias e dolorosas.

APÊNDICE I - RESULTADOS SUPLEMENTARES DO CAPÍTULO I

Figura 1. Curvas de DSC dos complexos e misturas físicas contendo linalol e hidroxipropil-β-ciclodextrina.

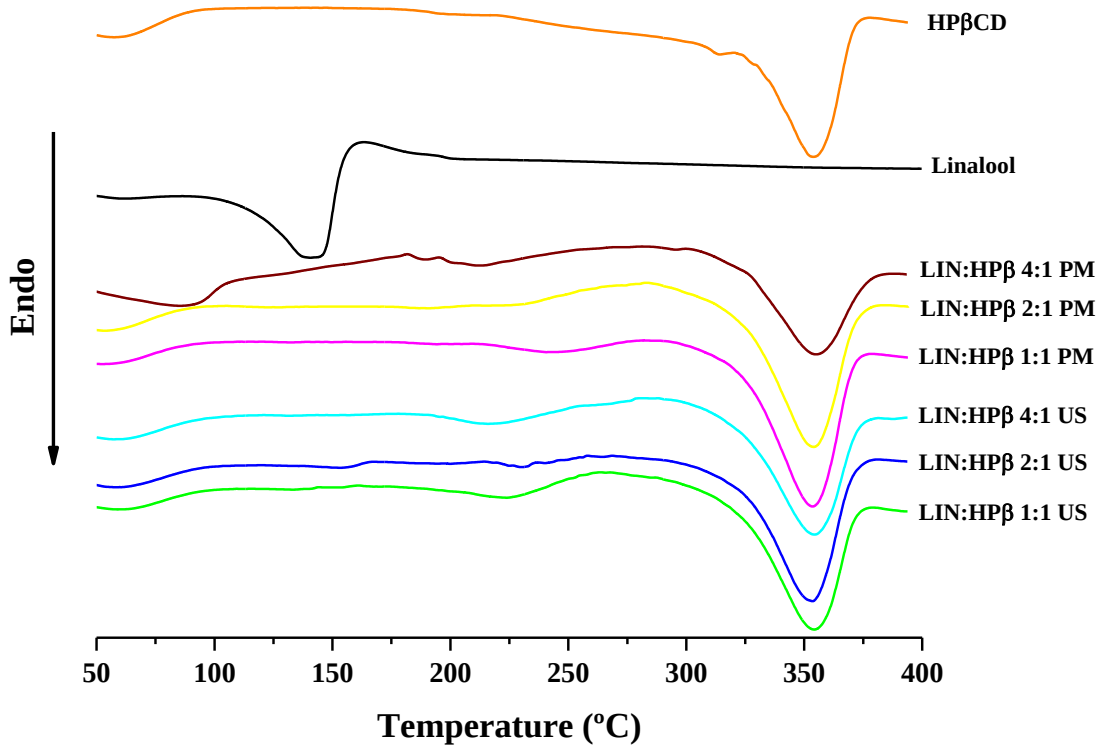


Tabela 1. Porcentagens de inibição em comparação ao grupo controle negativo.

% Inhibition									
Dia	**IBU**	**LIN**	**IBU+LIN**	**IBU:HPβ (1:1)**	**LIN:HPβ (1:1)**	**IBU+LIN:HPβ (1:1)**	**IBU:HPβ (2:1)**	**LIN:HPβ (2:1)**	**IBU+LIN:HPβ (2:1)**
1	4.52	-	13.49	11.07	12.92	16.92	26.20	20.49	22.63
2	14.15	10.68	20.16	18.29	17.08	33.77	36.44	22.16	40.45
3	19.49	11.40	30.63	28.11	21.75	33.68	39.73	33.15	44.56
4	19.86	12.41	25.93	29.24	24.00	31.44	43.44	36.00	46.62
5	13.89	13.32	29.36	35.24	29.22	44.98	46.27	25.93	51.00
6	18.93	8.78	32.72	28.33	21.36	57.12	34.69	32.72	54.39
7	19.11	15.81	40.44	35.21	29.57	64.37	44.70	33.70	69.92
8	17.27	6.11	34.86	21.34	27.21	57.49	40.21	21.55	56.72
9	13.75	12.32	34.87	41.29	29.35	59.97	53.99	37.86	59.07
10	24.96	21.03	41.23	46.28	37.58	56.80	50.63	46.84	74.05
11	19.09	17.34	38.48	42.27	41.69	47.14	55.39	47.08	63.84
12	22.40	15.43	39.76	47.92	39.31	58.45	49.55	44.21	64.83
13	38.17	23.23	55.58	49.28	43.52	69.29	62.98	43.52	74.77
14	39.14	16.39	50.36	49.18	32.37	66.32	52.43	54.76	78.43
15	40.66	26.65	52.25	39.45	32.27	61.89	60.84	37.80	71.98
16	37.72	24.26	50.44	41.56	37.27	66.56	66.56	37.42	78.54
17	36.83	23.81	45.56	49.70	47.63	67.45	65.23	48.66	49.70
18	34.40	24.30	53.00	53.58	46.12	71.15	61.63	39.38	79.64
19	30.87	21.01	51.39	51.55	48.27	68.96	54.51	40.72	74.22
20	39.06	21.87	55.15	55.31	48.43	69.53	64.06	38.59	83.75
21	33.48	20.06	52.16	52.46	42.12	77.93	68.20	50.77	85.33

ANEXO I - PARECER DA AUTORIZAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA E PESQUISA ANIMAL (CEUA/URCA)

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE EXPERIMENTAÇÃO E USO DE ANIMAIS
Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta
Fones: (088) 3102.1291 / Fax: (088) 3102.1291
CEP 63105-000 – Crato - CE - Brasil
propg@urca.br - www.urca.br/ceua

Declaração

Declaro para devidos fins, que o projeto intitulado "**Avaliação Antinociceptiva do efeito sinérgico da co-complexação do (-)-linalol e ibuprofeno em β-ciclodextrina**"- processo **00247/2023-1** foi **APROVADO** pela Comissão de Experimentação e Uso de animais-CEUA-URCA .

Roseli Barbosa

Vice-Coordenadora do CEUA-URCA

Crato, 28 de agosto de 2023

ANEXO II – PRODUÇÕES CIENTÍFICAS (2022/2025)

Artigos publicados como primeira autora

ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA; PESSOA, RENATA TORRES; SILVA, LUCAS YURE SANTOS DA ; SILVA, TARCISIO MENDES ; MENEZES, ISIS OLIVEIRA ; MARTINS, ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA; DE MENEZES, IRWIN ROSE ALENCAR ; WANDERLEY, ALMIR GONÇALVES. Mechanisms of Action Involved in the In Vivo Gastroprotective Response of Fruits: A Systematic Review. Food Frontiers (2025).

Artigos publicados em colaboração

1. DA SILVA, LUCAS YURE SANTOS; ALVES, DANIEL SAMPAIO; RAMOS, ANDREZA GUEDES BARBOSA ; PESSOA, RENATA TORRES ; DE ARAÚJO-NETO, JOSÉ BEZERRA ; DA SILVA, MARIA MILENE COSTA ; **ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA** ; DE LACERDA NETO, LUIZ JARDELINO ; DE OLIVEIRA, MARIA RAYANE CORREIA ; DE MORAIS OLIVEIRA-TINTINO, CÍCERA DATIANE ; QUINTANS-JÚNIOR, LUCINDO JOSÉ ; COUTINHO, HENRIQUE DOUGLAS MELO ; IRITI, MARCELLO ; DE MENEZES, IRWIN ROSE ALENCAR . Evaluation of the inhibitory effect of isopulegol (ISO) and its β-cyclodextrin inclusion complex (ISO/β-CD) on the reversal of Staphylococcus aureus efflux pump activity. POLYMER BULLETIN. v. 5, p. 1-14, 2024.

2. PESSOA, RENATA TORRES; SANTOS DA SILVA, LUCAS YURE; **ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA**; SILVA, TARCÍSIO MENDES; SILVA, EDUARDO DOS SANTOS; DA COSTA, ROGER HENRIQUE SOUSA; DA SILVA, APARECIDA BARROS; RIBEIRO-FILHO, JAIME; PEREIRA BEZERRA MARTINS, ANITA OLIVEIRA BRITO; COUTINHO, HENRIQUE DOUGLAS MELO; SOUSA, JEAN CARLOS PEREIRA; CHAVES, ANDRÉA RODRIGUES; MARRETO, RICARDO NEVES; DE MENEZES, IRWIN ROSE ALENCAR. Antinociceptive Potential of Ximenia americana L. Bark Extract and Caffeic Acid: Insights into Pain Modulation Pathways. PHARMACEUTICALS, v. 17, p. 1671, 2024.

3. SILVA, LUCAS YURE; SANTOS DA SILVA, LUCAS YURE; PESSOA, RENATA TORRES; **ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA** ; DOS SANTOS SILVA, EDUARDO ; BARROS DA SILVA, APARECIDA ; ALVES JUNIOR, SILVIO CAETANO ; SARAIVA, ROGERIO DE AQUINO ; DE MORAIS OLIVEIRA-TINTINO, CÍCERA DATIANE ; RIBEIRO-FILHO, JAIME ; DE MENEZES, IRWIN ROSE ALENCAR . Antiedematogenic and anti-inflammatory effects of the essential oil from the fruits of Piper tuberculatum Jacq. (Piperaceae) in animal models. CHEMISTRY & BIODIVERSITY, v. 5, p. 1-14, 2024.

4. PESSOA, RENATA TORRES ; **ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA** ; SILVA, LUCAS YURE SANTOS DA ; DA COSTA, ROGER HENRIQUE SOUZA ; SILVA, TARCÍSIO MENDES ; DE MORAIS OLIVEIRA-TINTINO, CÍCERA DATIANE ; RAMOS, ANDREZA GUEDES BARBOSA ; OLIVEIRA, MARIA RAYANE CORREIA DE ; MARTINS, ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA ; DE LACERDA, BRUNA CAROLINE GONÇALVES VASCONCELOS ; DE ANDRADE, EDLANE MARTINS ; RIBEIRO-FILHO, JAIME ; GONÇALVES LIMA, CLARA MARIANA ; COUTINHO, HENRIQUE DOUGLAS MELO ; MENEZES, IRWIN ROSE ALENCAR DE . Ximenia americana L.: Chemical Characterization and Gastroprotective Effect. Analytica, v. 4, p. 141-158, 2023.

5. DE LIMA SILVA, MARIA GABRIELY; SANTOS DA SILVA, LUCAS YURE; PESSOA, RENATA TORRES; DE OLIVEIRA, MARIA RAYANE CORREIA; ALVES BATISTA, FRANCISCO LUCAS; **ALCANTARA, ISABEL SOUSA**; MARTINS, ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA; RIBEIRO-FILHO, JAIME; COUTINHO, HENRIQUE; DE MENEZES, IRWIN ROSE ALENCAR. Antiedematogenic and analgesic activities of abietic acid in mice. CHEMISTRY & BIODIVERSITY, v. 5, p. 202300906, 2023.

6. RAYANE CORREIA DE OLIVEIRA, MARIA ; GABRIELY DE LIMA SILVA, MARIA ; DATIANE DE MORAIS OLIVEIRA-TINTINO, CÍCERA ; RELISON TINTINO, SAULO ; ESMERALDO ROCHA, JANAINA ; ERNANI ALVES MAGALHÃES, FRANCISCO ; HENRIQUE SOUSA DA COSTA, ROGER ; TORRES PESSOA, RENATA ; **SOUSA ALCÂNTARA, ISABEL** ; OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA MARTINS, ANITA ; DOUGLAS MELO COUTINHO, HENRIQUE ; RAPOSO, ANTÓNIO ; CARRASCOSA, CONRADO ; RADUAN JABER, JOSÉ ; AQUINO SARAIVA, ROGÉRIO ; ROSE ALENCAR DE MENEZES, IRWIN . Antibacterial effect, efflux pump inhibitory (NorA, TetK and MepA) of Staphylococcus aureus and in silico prediction of α, β and δ-damascone compounds. Arabian Journal of Chemistry, v. 16, p. 104482, 2023.

7. DANTAS, LINDAIANE B.R.; **ALCÂNTARA, ISABEL S.** ; JÚNIOR, CÍCERO PEDRO S. ; DE OLIVEIRA, MARIA RAYANE C. ; MARTINS, ANITA O.B.P.B. ; DANTAS, TICIANO M. ; RIBEIRO-FILHO, JAIME ; COUTINHO, HENRIQUE DOUGLAS M. ; PASSOS, FABÍOLLA R.S. ; QUINTANS-JÚNIOR, LUCINDO J. ; ALMEIDA, JACKSON ROBERTO G.S. ; CRUZ-MARTINS, NATÁLIA ; KIM, BONGLEE ; DE MENEZES, IRWIN ROSE ALENCAR . *In vivo* and in silico anti-inflammatory properties of the sesquiterpene valencene. BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY, v. 153, p. 113478, 2022.

8. DA COSTA, ROGER HENRIQUE SOUSA ; MARTINS, ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA ; PESSOA, RENATA TORRES ; ALSHEHRI, SAAD ALI ; WAHAB, SHADMA ; AHMAD, MD FARUQUE ; SULIMAN, MUATH ; DA SILVA, LUCAS YURE SANTOS ; **ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA** ; RAMOS, ANDREZA GUEDES BARBOSA ; OLIVEIRA, MARIA RAYANE CORREIA DE ; BATISTA, FRANCISCO LUCAS ALVES ; DELMONDES, GYLLYANDESON DE ARAÚJO ; DE FARIAS, PABLO ANTONIO MAIA ; ROCHA, JANAÍNA ESMERALDO ; COUTINHO, HENRIQUE DOUGLAS MELO ; RAPOSO, ANTÓNIO ; CARRASCOSA, CONRADO ; JABER, JOSÉ RADUAN ; DE MENEZES, IRWIN ROSE ALENCAR ; et.al . Mechanisms of Actions Involved in The Antinociceptive Effect of Estragole and its β-Cyclodextrin Inclusion Complex in Animal Models. PLANTS, v. 11, p. 2854, 2022.

Apresentação de trabalho

1. SILVA, A. B. ; PESSOA, RENATA TORRES ; SILVA, L. Y. S. ; **ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA** ; SILVA, T. M. ; ALVES JUNIOR, S. C. ; OLIVEIRA, M.R.C ; MARTINS, A. O. B. P. B. ; RIBEIRO FILHO, J. ; MENEZES, I. R. A. . AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS CASCAS DE Ximenia americana L. (EHXA) E SEU COMPOSTO MAJORITÁRIO ÁCIDO CAFEICO (AC) ENVOLVENDO A PARTICIPAÇÃO DA VIA GLUTAMATÉRGICA. In: IX Simpósio de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco 3rd France-Brazil Meeting on Natural Products, 2023, Petrolina. Farmacologia, 2024.

2. ALVES JUNIOR, S. C. ; Pessoa T.R ; SILVA, L. Y. S. ; **ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA** ; Costa S.H.R ; SILVA, T. M. ; OLIVEIRA, M.R.C ; MARTINS, A. O. B. P. B. ; RIBEIRO FILHO, J. . EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS CASCAS DE Ximenia americana L. E SEU CONSTITUINTE MAJORITÁRIO ÁCIDO CAFEICO ENVOLVENDO A PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA OPIOIDE. In: IX Simpósio de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco 3rd France-Brazil Meeting on Natural Products, 2023, Petrolina. Farmacologia, 2023.

3. ROCHA, M. C. ; SILVA, L. Y. S. ; **ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA** ; SILVA, A. B. ; ALVES, D. S. ; MARTINS, A. O. B. P. B. ; RIBEIRO FILHO, J. ; MENEZES, I. R. A. . AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DA Piper tuberculatum JACQ. (PIPERACEAE) EM MODELOS ANIMAIS. In: IX Simpósio de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco 3rd France-Brazil Meeting on Natural Products, 2023, Petrolina. Farmacologia, 2023.

4. SANTOS, S. M. G. ; **ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA** ; Pessoa T.R ; SILVA, L. Y. S. ; SILVA, E. S. ; SILVA, T. M. ; RIBEIRO FILHO, J. ; MARTINS, A. O. B. P. B. ; MENEZES, I. R. A. . AVALIAÇÃO DO ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES α2 ADRENÉRGICOS NO EFEITO GASTROPROTETOR PROMOVIDO PELO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE Plinia peruviana (Poir.) Govaerts. In: IX Simpósio de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco 3rd France-Brazil Meeting on Natural Products, 2023, Petrolina. Farmacologia, 2023.

5. Pessoa T.R ; SILVA, L. Y. S. ; **ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA** ; DE MORAIS OLIVEIRA-TINTINO, CÍCERA DATIANE ; Costa S.H.R ; SILVA, T. M. ; SILVA, E. S. ; MARTINS, A. O. B. P. B. ; RIBEIRO FILHO, J. ; MENEZES, I. R. A. . EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE Ximenia americana L. E SEU CONSTITUINTE MAJORITÁRIO: ÁCIDO CAFEICO POR MEIO DA VIA DE SINALIZAÇÃO VANILÓID. In: IX Simpósio de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco 3rd France-Brazil Meeting on Natural Products, 2023, Petrolina. Farmacologia, 2023.

6. SILVA, E. S. ; Pessoa T.R ; SILVA, L. Y. S. ; SILVA, T. M. ; ALVES JUNIOR, S. C. ; RAMOS, ANDREZA GUEDES BARBOSA ; MARTINS, A. O. B. P. B. ; RIBEIRO FILHO, J. ; **ALCÂNTARA, ISABEL SOUSA** ; MENEZES, I. R. A. . AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANALGÉSICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE Ximenia americana L. E SEU COMPOSTO MAJORITÁRIO ÁCIDO CAFEICO ENVOLVENDO A PARTICIPAÇÃO DA VIA: OXIDO NÍTRIC. In: IX Simpósio de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco 3rd France-Brazil Meeting on Natural Products, 2023, Petrolina. Farmacologia, 2023.

7. PINHEIRO, M. R. ; DA SILVA, LUCAS YURE SANTOS ; SILVA, T. M. ; SILVA, A. B. ; SILVA, E. S. ; TORRES PESSOA, RENATA ; **ALCANTARA, ISABEL S.** ; RIBEIRO FILHO, J. ; MENEZES, I. R. A. . AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIEDEMATOGÊNICA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DE Piper tuberculatum JACQ. (PIPERACEAE) EM MODELOS ANIMAIS. 2023. (Apresentação de Trabalho/Outra).

8. SILVA, T. M. ; Pessoa T.R ; SILVA, L. Y. S. ; Costa S.H.R ; **ALCANTARA, ISABEL S.** ; MENEZES, I. R. A. . Investigation of the involvement of the cholinergic system in the gastroprotective effect of the hydroethanolic extract of the stem barks of Ximenia Americana L.. 2022. (Apresentação de Trabalho/Conferência ou palestra).

9. SILVA, T. M. ; **ALCANTARA, ISABEL S.** ; Pessoa T.R ; SILVA, L. Y. S. ; Costa S.H.R ; MENEZES, I. R. A. ; MARTINS, A. O. B. P. B. ; WANDERLEY, A. G. . Gastroprotective Activity of the Juice and Hydroethanolic Extract of the Fruit Peels of Plinia Peruviana (Poir.) Govaerts (Myrtaceae) on the Involvement of Nitric Oxide Action. 2022. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

10. SILVA, A. B. ; **ALCANTARA, ISABEL S.** ; SILVA, L. Y. S. ; Pessoa T.R ; SILVA, E. S. ; MARTINS, A. O. B. P. B. ; RIBEIRO FILHO, J. ; WANDERLEY, A. G. ; MENEZES, I. R. A. . EFEITO DO SUMO DE Plinia peruviana (Poir). Govaerts (Myrtaceae) NA MOTILIDADE INTESTINAL DE CAMUNDONGOS. 2022. (Apresentação de Trabalho/Outra).

11. CLEMENTINO, T. M. ; **ALCANTARA, ISABEL S.** ; PESSOA, RENATA TORRES ; SILVA, L. Y. S. ; RAYANE CORREIA DE OLIVEIRA, MARIA ; SILVA, E. S. ; RIBEIRO FILHO, J. ; WANDERLEY, A. G. ; MENEZES, I. R. A. . ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO SUMO DO FRUTO DE Plinia peruviana (Poir.) Govaerts (MYRTACEAE) SOBRE O ENVOLVIMENTO DA AÇÃO ENZIMÁTICA DA MIELOPEROXIDASE. 2022. (Apresentação de Trabalho/Outra).

Participação em bancas

1. **ALCÂNTARA, I. S.**; SILVA, L. Y. S.; MARTINS, A. O. B. P. B.; MENEZES, I. R. A.. Participação em banca de KEYCIANE PRIMO MENDES.POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE UM DERIVADO SEMISINTÉTICO DO ÁCIDO ABIÉTICO ASSOCIADO AO EUGENOL CONTRA AS CEPAS DE Escherichia coli e Sthaphylococus aureus. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Regional do Cariri.

2. MENEZES, I. R. A.; **ALCÂNTARA, I. S.**; Pessoa T.R; SILVA, L. Y. S.. Participação em banca de APARECIDA BARROS DA SILVA.ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DA Piper tuberculatum JACQ. (PIPERACEAE) EM CAMUNDONGOS Swiss. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Regional do Cariri.

3. **ALCANTARA, ISABEL S.**; OLIVEIRA, M.R.C; ALENCAR DE MENEZES, IRWIN ROSE. Participação em banca de TARCISIO MENDES SILVA.AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIEDEMATOGÊNICA DO COMPLEXO DE INCLUSÃO TERPINOLENO/β-CICLODEXTRINA EM MODELOS ANIMAIS. 2022.

Capítulos de livro

SILVA, T. M. ; PESSOA, RENATA TORRES ; SILVA, L. Y. S. ; **ALCANTARA, ISABEL S.** ; SILVA, A. B. ; JÚNIOR, CÍCERO PEDRO S. ; Costa S.H.R . Ciências Biológicas e Suas Multiplicas Aplicabilidades. 570. ed. Rio branco: Stricto Sensu Editora, 2022.

ANEXO III – RELATÓRIO DE DEPÓSITO DE PATENTE

INPI INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

870250096954
14:39
23/10/2025

20400102330022074

Pedido nacional de invenção; Pedido nacional de modelo de utilidade; Pedido nacional de certificado de adição de invenção; e Entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2025 023044 5

Dados do Depositante (71)

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 01567601000143

Nacionalidade: Brasileira

Endereço: UFG, PRÉDIO DA REITORIA, CAMPUS SAMAMBAIA

Cidade: Goiânia

Estado: GO

CEP: 74690-900

País: Brasil

Telefone: (62)3521 2043

Fax: (62)3521 2023

Email: dpitt.ufg@gmail.com