

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**DOCKING E ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA
OROFACIAL DO GERANIOL EM CAMUNDONGOS**

TEREZA KARLA VIEIRA LOPES DA COSTA

SAPIENTIA AEDIFICAT

João Pessoa-PB

2018

TEREZA KARLA VIEIRA LOPES DA COSTA

**ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA OROFACIAL DO GERANIOL EM
CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Ciências Odontológicas.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro

João Pessoa- PB

2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C838d Costa, Tereza Karla Vieira Lopes da.

Docking e Atividade antinocipetiva orofacial do
geraniol em camundongos / Tereza Karla Vieira Lopes da
Costa. - João Pessoa, 2018.

43 f. : il.

Orientação: Ricardo Dias de Castro Castro.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Monoterpenos. 2. Geraniol. 3. Dor orofacial. 4.
Experimentação em animais. 5. Modelo animal de dor. I.
Castro, Ricardo Dias de Castro. II. Título.

UFPB/BC

TEREZA KARLA VIEIRA LOPES DA COSTA

**DOCKING E ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA OROFACIAL DO
GERANIOL EM CAMUNDONGOS**

Banca Examinadora



Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro

Orientador - UFPB



Prof. Dr. André Ulisses Dantas Batista

Examinador - UFPB



Prof. Dra. Jozinete Vieira Pereira Marques

Examinador - UEPB

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha mãe, minha irmã e a Rodrigo. Sem o apoio incondicional de vocês, eu jamais teria conseguido essa vitória.

AGRADECIMENTOS

A Deus e à Nossa Senhora Aparecida por tantas graças concedidas e por nunca permitir que eu desistisse dos meus sonhos.

À minha mãe e minha irmã por estarem sempre ao meu lado, me apoiando em tudo.

À minha avó Terezinha por todas as orações.

Ao meu namorado, Rodrigo, pela confiança, apoio, puxões de orelha e por sempre me escutar.

Ao meu orientador, professor Ricardo Castro, pela confiança depositada para que eu realizasse meu trabalho com êxito.

À minha amiga Isis, pela sua amizade, ajuda e companheirismo.

À Sara, também pela amizade e confiança.

Ao professor Reinaldo, por ter aberto as portas do Laboratório de Psicofarmacologia. A Renan e a Humberto pela disponibilidade sempre em ajudar nos experimentos.

Às amigas que fiz no laboratório, Rebecca e Elba, por compartilharem não apenas experimentos, mas muitas risadas.

À Mariana, pela contribuição e disponibilidade de ajudar nos experimentos.

Gostaria de agradecer a todos que participaram de alguma forma para que esse trabalho fosse concluído. Nada seria possível se estivesse sozinha. Obrigada!

EPÍGRAFE

*“Em tudo dai graças, porque esta é a vontade de Deus
em Cristo para convosco”
(1Tessalonicense 5:18)*

RESUMO

O geraniol é um álcool monoterpeneo, encontrado nos óleos essenciais de várias plantas aromáticas. Possui um amplo espectro de atividades farmacológicas, com destaque para a atividade antinociceptiva. O presente estudo caracterizou-se como não-clínico, randomizado, controlado e duplo-cego. Seu objetivo foi avaliar o efeito antinociceptivo orofacial do geraniol em modelo experimental de nocicepção em camundongos e avaliar seu mecanismo de ancoragem molecular. Para cada teste realizado, sete animais por grupo foram tratados pela via intraperitoneal (i.p.) com o geraniol de acordo com sua dose (12,5; 25 e 50mg/kg, i.p.), com o controle positivo (morfina-6mg//kg, i.p) e o controle negativo (salina+Tween 80 a 0,2%, i.p), por um pesquisador 30 minutos antes do início do experimento. A indução da nocicepção foi realizada através da injeção dos agentes glutamato (40 µl, 25µM), capsaicina (20µl, 2.5µg) e formalina (20µl, 2%) na região de lábio superior direito (perinasal) do animal. A análise do comportamento dos animais considerou o tempo de fricção, em segundos, da referida região pelas patas traseiras ou dianteiras, por um pesquisador cego aos grupos de tratamento. A análise estatística foi feita cegamente, considerando $\alpha=5\%$. Para identificar se ocorreu diferença estaticamente significativa entre os grupos, realizou-se o teste Anova de um único fator. Os grupos foram comparados utilizando o teste T não-pareado de variâncias heterogêneas. Os resultados mostraram que no teste do glutamato e da capsaicina as concentrações de 25 mg/kg e 50mg/kg apresentaram atividade antinociceptiva ($p<0,005$ e poder $>80\%$). No teste da formalina, o geraniol conseguiu reduzir a nocicepção na concentração de 50mg/kg ($p<0,005$ e poder $>80\%$). No estudo de ancoragem molecular, observou-se elevados valores de ligação entre a substâncias e os receptores avaliados: receptor metabotrópico para o glutamato seis (mGlu6); N-metil-D-aspartato (NMDA); ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico (AMPA); receptor opioide μ (μ); receptor opioide kappa (κ); receptor opioide delta (δ); receptor de potencial transitório vaniloide um (TRPV1). A partir da análise dos dados, pode-se inferir que o geraniol demonstrou expressivo potencial terapêutico no combate à dor orofacial

Palavras-chave: monoterpeneos, geraniol, dor orofacial, experimentação em animais, modelo animal de dor.

ABSTRACT

Geraniol is the monoterpene alcohol, found in the essential oils of several aromatic plants. It has a broad aspect of pharmacological activities, with emphasis on antinociceptive activity. The presente study was characterized as non-clinical, randomized, controlled and double-blind. Its objective was to evaluate the orofacial antinociceptive effect of geraniol in an experimental model of nociception in mice and its molecular anchorage mechanism. For each test performed, seven animals per group were treated through the intraperitoneal route (i.p.) with geraniol according to their dose (12.5; 25 and 50mg / kg, ip), with the positive control (morphine-6mg / kg, ip) and the negative control (saline + 0.2% Tween 80, ip), by a researcher 30 minutes before the beginning of the experiment. Nociception induction was carried out by injecting the agents glutamate (40 μ l, 25 μ M), capsaicin (20 μ l, 2.5 μ g) and formalin (20 μ l, 2%) in the upper right lip (perinasal) region of the animal. The behavioral analysis of the animals considered the friction time, in seconds, of the mentioned region using hind or front paws by a researcher blind to the treatment groups. The statistical analysis was performed blindly, considering α = 5%. To identify whether there was a statistically significant difference between the groups, the ANOVA test of a single factor was implemented. They were compared utilizing the unpaired T-test of heterogeneous variances. The results of the glutamate and capsaicin test established antinociceptive activity (p <0.005 and power > 80%) at 25 mg/kg and 50 mg/kg. In the formalin test, geraniol reduced nociception at the concentration of 50 mg/kg (p <0.005 and power > 80%). The study of molecular anchorage observed high values of binding between the evaluated substances and receptors: metabotropic receptor for glutamate six (mGlu6); N-methyl-D-aspartate (NMDA); α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA); opioid mü (μ) receptor; opioid kappa (κ) receptor; opioid delta (δ) receptor; vanilloid transient potential receptor one (TRPV1). From the data analysis, it can be inferred that geraniol demonstrated significant therapeutic potential in combating orofacial pain

Keywords: monoterpenes, geraniol, orofacial pain, animal testing, animal pain model.

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

AMPA: ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico

Ca^{2+} : íon cálcio

CONCEA: Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal

CGRP: Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina

DP: Desvio Padrão

IC: Intervalo de Confiança

ID.: Identificação

i.p.: intraperitoneal

Kcal/mol: quilocaloria por mol

Kg: quilograma

μl : microlitro

mg: miligrama

mGluR6: receptor metabotrópico para o glutamato seis

min: minuto

MDS: Moldock Score

NMDA: N-metil-D-aspartato

NaCl: Cloreto de sódio

NO: Óxido Nítrico

PDB: Protein Data Bank

δ : receptor opiode delta

κ : receptor opiode kappa

μ : receptor opiode mü

SNC: Sistema Nervoso Central

SPSS: Statistical Package for Social Sciences

TRPV1: receptor de potencial transitório vaniloide um

UFPB: Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Capítulo 1.....	5
INTRODUÇÃO.....	7
MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
Experimentação animal.....	9
Indução da nocicepção orofacial.....	10
Gerenciamento dos dados e cegamento.....	11
Estudo de ancoragem molecular: <i>in silico</i>	12
Análise estatística.....	13
RESULTADOS.....	14
DISCUSSÃO.....	20
CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS.....	24
3. Considerações gerais.....	28
4. Conclusão.....	29
5. Referências.....	30

1. INTRODUÇÃO

A denominação dor orofacial é utilizada na literatura como termo amplo e engloba condições dolorosas provenientes da cavidade oral e face. No entanto, também pode ser referida à região da cabeça e/ou pescoço, e ainda estar associada à cervicalgias, cefaleias primárias e doenças reumáticas como fibromialgia e artrite reumatoide¹. A nocicepção refere-se ao estímulo doloroso propriamente dito, sem levar em consideração o componente emocional, ou seja, engloba as vias neuroanatômicas, bem como os mecanismos neurológicos e os receptores específicos que detectam o estímulo lesivo².

As principais fibras nervosas responsáveis pela condução desse estímulo são as do tipo A-delta e C. As fibras A-delta são mielinizadas e responsáveis pela condução rápida de estímulos mecânicos dolorosos agudos. Enquanto as do tipo C são amielinizadas e de condução lenta, respondendo a dor de origem mecânica, térmica e química. Na região orofacial, essas fibras são relacionadas ao nervo trigêmeo (V par craniano) através de seus três ramos: oftálmico, maxilar e mandibular. Esse nervo apresenta os núcleos mesencefálico, sensorial principal e o trigeminal espinhal, conhecido como corno dorsal. O corno dorsal divide-se em três subnúcleos: subnúcleo oral, interpolar e caudal. No subnúcleo caudal é onde ocorre maioria das sinapses das fibras nociceptivas ^{1,3}.

Os medicamentos constituem-se como a base do tratamento da dor orofacial. No entanto, abre-se uma lacuna em relação ao protocolo medicamentoso a ser estabelecido, tendo em vista que ainda não há disponível um fármaco analgésico, anti-inflamatório, antidepressivo que não promova reações adversas potenciais nos pacientes⁴. Dessa forma, surge a necessidade de buscar medidas alternativas para o desenvolvimento de medicamentos para o combate da dor.

O uso de plantas medicinais e seus metabólitos se destacam na perspectiva de descoberta para novas drogas com potencial terapêutico para o tratamento de distúrbios dolorosos orofaciais. Os produtos de origem natural fornecem uma fonte diversificada de compostos bioativos, de modo que cerca de 20 a 50% dos medicamentos atualmente utilizados possui como fonte primária os produtos naturais, incluindo as plantas medicinais^{5,6,7}.

Observa-se na literatura científica a presença de estudos que utilizaram produtos de origem natural para avaliar o efeito antinociceptivo orofacial em modelos experimentais não-clínicos em roedores. Na revisão sistemática realizada por Siqueira-Lima et al.⁸, 18 artigos descreveram o efeito antinociceptivo de extratos de plantas medicinais e isolados químicos em modelos animais, em concentrações que variaram de 1µg/kg a 400mg/kg, pelas vias oral e intraperitoneal (i.p.), sendo avaliado, principalmente o comportamento animal caracterizado pelo tempo no qual os animais executam fricção na região orofacial após administração de agente indutor de nocicepção. A partir da análise desse trabalho, observou-se que os produtos naturais podem ser uma ferramenta de destaque para o desenvolvimento de potenciais drogas para o tratamento das dores orofaciais.

Substâncias obtidas através dos produtos de origem natural são os monoterpenos, encontrados nos óleos essenciais de diversas plantas aromáticas. Caracterizam-se por apresentar unidades isoprenicas, compostas por dez unidades de carbono. Essas moléculas são reconhecidas por apresentarem diversas atividades farmacológicas, como o efeito anti-inflamatório e antinociceptivo já relatado na literatura^{9,10}. Na revisão sistemática da literatura realizada por Guimarães et al.¹¹, foram encontrados 45 artigos relatando a atividade analgésica de 27 diferentes monoterpenos em modelos de nocicepção animal. A partir desse estudo, observou-se que os monoterpenos acíclicos geralmente modulam o sistema opioide e possuem ação na produção de mediadores inflamatórios.

O geraniol (3,7-dimetilocta-trans-2,6-dien-1-ol) é um álcool monoterpeno acíclico, com fórmula química C₁₀H₁₈O, encontrado nos óleos essenciais de várias plantas aromáticas como *Cinnamomum tenuipilum*, *Valeriana officinalis* *Cinnamomum tenuipilum* *Kosterme*, dentre várias outras espécies vegetais. Apresenta-se na cor amarelo pálido, sendo insolúvel em água. Exerce um amplo espectro de atividades farmacológicas^{12,13,14,15}.

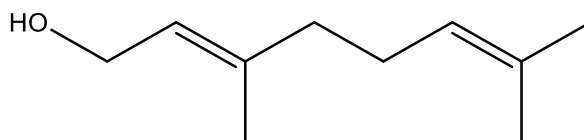


Figura1- Estrutura química do geraniol

Através de estudos realizados, observou-se que o geraniol apresenta atividade antimicrobiana¹⁶, anti-inflamatória¹⁷, antioxidante¹⁸, com ação antiulcerogênica¹⁹, com redução das lesões gástricas em 70% a 90% dos casos avaliados. Essa substância também é capaz de atuar contra células tumorais relacionadas aos cânceres de mama²⁰, pulmão²¹ e próstata²². Ainda em relação à sua atividade antitumoral, Cho et al²³ observaram que esse monoterpene foi capaz de controlar uma variedade de moléculas de sinalização as quais estão envolvidas no ciclo celular, no metabolismo, autofagia e apoptose. De maneira geral, drogas que atuam assim são mais eficazes nos tratamentos de cânceres que apresentam maior resistência.

Yan et al²⁴ avaliaram a ação do geraniol sobre a dor neuropática. Ratos com lesão induzida na medula espinhal foram tratados com o geraniol nas concentrações de 100 e 200mg/kg. A partir dessa pesquisa, verificou-se que esse monoterpene promoveu de modo significativo a recuperação da função neuronal, com melhoria da função locomotora, a partir regulação negativa de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), tendo ação dose-dependente.

Na literatura existem modelos clássicos para avaliação da nocicepção orofacial em modelo de roedores. Entre eles, pode-se destacar o uso de substâncias indutoras da nocicepção orofacial: glutamato, capsaicina e formalina, a fim de avaliar a capacidade de inibir essa atividade pela molécula ou substância estudada. Nesses modelos, essas substâncias são injetadas no lábio superior direito do camundongo (ou região perinasal) e é analisado o tempo de fricção da referida região pelas patas dianteira ou traseiras do animal ^{25,26}. Através da mesma metodologia, Tomaz-Morais et al²⁷, analisou a capacidade de reverter a nocicepção orofacial, usando o monoterpene (S)-(-)-álcool-perílico, nas doses de 50 e 75 mg/kg usados na via i.p., as quais foram capazes de reduzir esse comportamento nos animais.

A atividade antinociceptiva do geraniol foi observada no estudo prévio de La Rocca et al ²⁸, em que as concentrações de 12,5; 25 e 50mg/kg demonstraram efeito farmacológico. No entanto, não há relatos na literatura que evidenciem sua ação sobre os processos nociceptivos na região orofacial. Dessa forma, objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antinociceptivo orofacial do geraniol, no modelo experimental de nocicepção em camundongos, utilizando os testes do glutamato, capsaicina e formalina, nas concentrações anteriormente citadas. Os mecanismos de ancoragem molecular também foram avaliados.

2. CAPÍTULO 1

O manuscrito a seguir será submetido para publicação no periódico Brazilian Oral Research. Fator de impacto: 1.223.

Título do manuscrito: Docking e Atividade antinociceptiva orofacial do geraniol em camundongos.

Autores: TKVL Costa¹, RM Braga², JO Viana³, RN Almeida⁴, L Scotti⁴, FB Sousa⁵, RD Castro⁵.

1. Mestranda. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, Brasil.

2. Doutorando. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. João Pessoa-PB, Brasil.

3. Mestranda. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. João Pessoa-PB, Brasil.

4. Docente. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. João Pessoa-PB, Brasil.

6. Docente. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, Brasil.

Financiamento: O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES).

Conflito de interesse: Não há conflito de interesse.

O geraniol é um álcool monoterpeneo, encontrado nos óleos essenciais de várias plantas aromáticas. Possui um amplo aspecto de atividades farmacológicas, com destaque para a atividade antinociceptiva. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito antinociceptivo orofacial do geraniol em modelo experimental de nocicepção em camundongos, utilizando os testes do glutamato, capsaicina e formalina, e avaliar seu mecanismo de ancoragem molecular. Para cada teste realizado, sete camundongos por grupo foram tratados pela via intraperitoneal (i.p.)

com o geraniol (12,5; 25 e 50mg/kg, i.p.), morfina (6mg/kg, i.p.) e veículo (salina+Tween 80 a 0,2%, i.p.) por um pesquisador 30 minutos antes do início do experimento. A indução da nocicepção foi realizada através da injeção dos agentes glutamato (40 µl, 25µM), capsaicina (20µl, 2.5µg) e formalina (20µl, 2%) na região de lábio superior direito (perinasal) do camundongo. A análise do comportamento dos animais considerou o tempo de fricção, em segundos, da referida região pelas patas traseiras ou dianteiras por um pesquisador cego aos grupos de tratamento. A análise estatística foi feita cegamente, considerando $\alpha=5\%$. Para identificar se havia diferença entre os grupos, realizou-se o teste Anova de um único fator. Os grupos foram comparados utilizando o teste T não-pareado de variâncias heterogêneas. Os resultados mostraram que no teste do glutamato e da capsaicina as concentrações de 25 mg/kg e 50mg/kg apresentaram atividade antinociceptiva ($p<0,005$ e poder $>80\%$). No teste da formalina, o geraniol conseguiu reduzir a nocicepção na concentração de 50mg/kg ($p<0,005$ e poder $>80\%$). No estudo de ancoragem molecular, observou-se elevados valores de ligação entre a substâncias e os receptores avaliados: receptor metabotrópico para o glutamato seis (mGluR6); N-metil-D-aspartato (NMDA); ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico (AMPA); receptor opioide μ (μ); receptor opioide kappa (κ); receptor opioide delta (δ); receptor de potencial transitório vaniloide um (TRPV1). A partir da análise dos dados, pode-se inferir que o geraniol apresentou atividade antinociceptiva orofacial, sendo uma potencial terapia no combate à dor orofacial

Palavras-chave: monoterpenos, geraniol, dor orofacial, experimentação em animais, modelo animal de dor.

Contagem de palavras: 7673.

INTRODUÇÃO

A dor orofacial é definida como a dor associada a tecidos moles e mineralizados (pele, vasos sanguíneos, ossos, dentes, glândulas, músculos) da cavidade oral e da face. Pode ser referida na região da cabeça e/ou pescoço ou mesmo estar associada à cervicalgias, cefaleias primárias e doenças reumáticas, como fibromialgia e artrite reumatoide. As principais fontes de dor orofacial são problemas odontogênicos, cefaleias, doenças neurogênicas, dores musculoesqueléticas, dores psicogênicas, câncer, infecções, fenômenos autoimunes e trauma tecidual ¹.

A ocorrência da dor orofacial nos pacientes pode causar repercussões biológicas e impacto sobre a qualidade de vida. Os portadores podem apresentar disfunções fisiológicas, levando a uma maior ingestão de fármacos, distúrbios do sono, modificação da dieta e afastamento das atividades laborais. Dada a morbidade que proporciona, pode ser considerada um problema de saúde pública ^{2,3}.

A farmacoterapia é a base do tratamento e a escolha do medicamento depende do tipo de dor diagnosticada. De maneira geral, os analgésicos opioides, antidepressivos tricíclicos, anticonvulsivantes, anti-inflamatórios não-esteroidais (AINE's) e os relaxantes musculares são as principais classes de fármacos utilizadas para o alívio dos quadros agudos e crônicos^{4,5}. Entretanto, não existe um fármaco que seja ideal para o tratamento das dores do complexo orofacial, pois mesmo sendo eficazes, promovem efeitos adversos potenciais nos pacientes. Esses efeitos podem incluir lesões do trato gastrointestinal e renal⁶.

Nessa perspectiva, os produtos de origem natural representam uma alternativa no emprego de moléculas biologicamente ativas com potencial terapêutico⁷. A importância desses produtos e dos seus metabólitos no controle da dor e outras doenças tem sido reconhecida pela ciência contemporânea, de modo que 20 a 50% medicamentos atualmente utilizados possui como fonte primária os produtos naturais, incluindo as plantas medicinais^{8,9}.

Diante disso, uma substância que ganha destaque em relação ao seu potencial terapêutico é o geraniol, um álcool monoterpeneo acíclico, obtido a partir de óleos essenciais de plantas aromáticas, apresentando uma diversidade de atividades farmacológicas e destacado uso comercial^{10,11}. A atividade

antinociceptiva do geraniol foi previamente relatada no estudo realizado por La Rocca et al.¹², em que as doses de 12,5; 25 e 50mg/kg foram utilizadas para avaliar a atividade antinociceptiva em modelo animal. No entanto, não há relatos na literatura que evidenciem sua ação sobre os processos nociceptivos na região orofacial.

Dessa forma, objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antinociceptivo orofacial do geraniol, no modelo experimental de nocicepção em camundongos, usando os testes do glutamato, capsaicina e formalina, nas doses anteriormente citadas, e determinar os mecanismos de ancoragem molecular a partir de uma modelo *in silico*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Experimentação animal

O presente estudo caracterizou-se como um ensaio não-clínico, randomizado, controlado e duplo-cedo, estando de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB), com certidão de aprovação 068/2017.

Para a realização dos experimentos, foram utilizados camundongos Swiss (*Mus musculus*), machos, adultos, saudáveis, pesando entre 25 e 35 gramas, disponibilizados pelo Biotério Prof. Thomas George da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Os animais foram submetidos ao ciclo claro-escuro de 12 horas (claro 6-18h), com água e dieta balanceadas *ad libitum*. A alimentação foi suspensa 24 horas antes da realização de cada experimento, sendo mantida apenas água *ad libitum*. Todos os experimentos foram executados sempre utilizando os mesmos observadores, previamente calibrados, no turno da tarde.

Para o cálculo amostral, foram utilizados os resultados obtidos a partir das investigações de La Rocca et al¹². Dessa forma, adotou-se um estudo como bicaudal, com nível de significância de 5%, $r = -0,878$ (magnitude do efeito) e poder estatístico de 80%, resultando em sete animais por grupo, em total de 105.

Nesse estudo, os animais foram eutanasiados após cada experimento. Inicialmente, administrou-se o Cloridrato de Cetamina (150mg/kg), por via intramuscular, e Cloridrato de Xilazina (11mg/kg) por via intraperitoneal. Em seguida, administrou-se 2mmol/kg de Cloreto de Potássio, por via intravenosa, e então os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical.

Indução da nocicepção orofacial

Para o estudo da dor orofacial em modelo animal, foram utilizados os seguintes experimentos: nocicepção orofacial induzida pelo glutamato, pela capsaicina e pela formalina. Para a realização dessa pesquisa, as substâncias indutoras de nocicepção e o geraniol foram obtidos da Sigma-Aldrich ® EUA.

No início do experimento, o geraniol foi aplicado nos grupos-teste. As doses sugeridas para avaliação da sua eficácia farmacológica foram baseadas em estudo prévio para avaliação do efeito antinociceptivo em modelos clássicos ⁽¹²⁾ e, portanto, corresponderam a 12,5, 25 e 50 mg/kg (i.p.). O controle negativo foi a solução de NaCl e Tween 80 (2%, i.p.). A morfina (6mg/kg, i.p.) foi utilizada como controle positivo.

Cerca de 30 minutos após a administração dessas substâncias, foi realizada a indução da nocicepção orofacial através da administração das substâncias indutoras na região orofacial direita (perinasal) do animal. Para o presente estudo, utilizou-se o modelo de análise comportamental, que consiste na observação do seu comportamento, considerando o tempo (em segundos) em que o mesmo permaneceu friccionando a área injetada com as patas traseiras ou dianteiras.

Para a avaliação, foram utilizadas caixas de madeira em formato triangular, com duas paredes de 25cm de altura e largura, formadas por espelho e vidro transparente. O pesquisador, previamente calibrado, realizou a observação direta intensiva do comportamento do animal.

Inicialmente, foi realizado o teste de indução da nocicepção pelo glutamato. Esse experimento foi descrito por Beirith, Santos e Calixto¹³, com modificações. Utilizou-se o volume de 40µl (25µM) do glutamato na porção do lábio superior (região perinasal), com uma agulha de calibre 27. Em seguida, os animais foram observados pelos 15 minutos posteriores à aplicação do agente álgico.

A nocicepção induzida pela capsaicina foi realizada através da injeção subcutânea de 20 µL (2.5µg) da capsaicina, dissolvida em etanol, dimetil-sulfóxido e água destilada (1:1:8), na região do lábio superior (região perinasal) com uma agulha de calibre 27. O comportamento nociceptivo foi observado por 20 minutos ⁽¹⁴⁾.

Por fim, no teste de indução da nocicepção pela formalina, foram administrados 20 µl de uma solução de formalina a 20% na região de lábio superior direito do camundongo (região perinasal) com uma agulha de calibre 27. Após a administração da substância, o comportamento nociceptivo foi observado em dois períodos: Fase 1 ou neurogênica (0-5 min) e Fase 2 ou inflamatória (15-40 min).
(15).

Gerenciamento dos dados e cegamento

O gerenciamento dos dados e métodos de cegamento foram realizados objetivando reduzir possíveis vieses no método de coleta e análise dos dados. A pesquisa teve o sequenciamento de testes randomizados, com alocação aleatória dos animais, utilizando o software *Random Allocation 2.0*.

O cegamento dos experimentos ocorreu da seguinte forma: o pesquisador A realizou a preparação dos materiais necessários para a execução dos testes e codificação dos animais; o pesquisador B fez aplicação das substâncias; o pesquisador C, que estava cego para as substâncias e doses recebidas pelo animal fez a observação direta intensiva do comportamento nociceptivo do animal, de acordo com o tempo de cada substância indutora. A seguir, a análise estatística dos dados foi realizada pelo pesquisador D, também cego. Por fim, o pesquisador A fez a recodificação dos dados analisados pelo pesquisador D.

Estudo de ancoragem molecular: *in silico*

A estrutura do geraniol foi obtida através do PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/637566#section=Top>), no formato .sdf. Os receptores foram baixados do Protein Data Bank – PDB (<http://www.rcsb.org/>). Todos os receptores possuem acoplado a sua estrutura um ligante inibidor já relatado em estudos *in vitro* que atuam na sua atividade enzimática. Para esse estudo foram selecionados os receptores que, uma vez ativados, iniciam uma cascata de eventos bioquímicos que culminam com a nocicepção^{16, 17, 18}.

Inicialmente, foram baixados os seguintes receptores e seus respectivos ligantes: receptor metabotrópico para o glutamato seis (PDB ID: 1S50, ligante ácido glutâmico), N-metil-D-aspartato (PDB ID: 2A5S, ligante ácido glutâmico), ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico (PDB ID: 3DLN, ligante ácido glutâmico); receptor opioide μ (PDB ID: 4DKL, ligante morfina); receptor opioide kappa (PDB ID: 4DJH, ligante JDTic); receptor delta (PDB ID: 4EJ4, ligante naltrindol); receptor de potencial transitório vaniloide um (PDB ID: 5IRZ, ligante $C_{24}H_{45}O_{13}P$).

Inicialmente, o composto geraniol e 7 ligantes presentes nas proteínas do PDB foram desenhados no programa Hyperchem for Windows v. 8.0.5¹⁹ e os compostos tiveram suas geometrias moleculares otimizadas usando o campo de força de Mecânica Molecular MM+ e o método semi-empírico AM1 (Austin Model 1)²⁰.

Em seguida, o geraniol foi submetido ao ancoramento molecular utilizando o programa Molegro Virtual Docker v. 6.0.1 – MVD²¹. Todas as moléculas de água foram deletadas da estrutura da enzima. As estruturas de enzimas e compostos foram preparadas usando a mesma configuração de parâmetro padrão do programa: Avaliação do ligante: foram verificados o Internal ES, Internal HBond; Número de corridas: 10 corridas; Algoritmo: MolDock SE; Interações máximas: 1500; tamanho máximo da população: 50; Máximo de etapas: 300; Fator de distância: 1.0; Número máximo de poses: 5. O procedimento de acoplamento foi realizado usando um GRID de 15 Å de raio e resolução de 0,30 para cobrir o local de ligação do ligante na estrutura da proteína. O poder de interação proteína-ligante

é expresso na forma de Moldock Score (MDS) em que valores negativos refletem interações mais fortes²².

Os resultados para cada cálculo foram analisados para obter os valores de energia de afinidade (Kcal/mol) para cada conformação do ligante em seu respectivo complexo, e imprecisões estruturais prováveis foram ignoradas nos cálculos.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através do software *Statistical Package for Social Sciences (SPSS,)* versão 21, adotando-se o estudo como bicaudal, com nível de significância de 5%. Inicialmente, foi realizado o teste Anova One-way para identificar se ocorre diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Posteriormente, foi realizado o teste T de variâncias heterogênea a fim de verificar como se deu as diferentes médias entre os grupos em relação ao controle.

RESULTADOS

A nocicepção orofacial induzida pelo glutamato foi impedida pela ação do geraniol. As doses de 25mg/kg ($p=0,01$; média= 23,85; DP=15,26; poder=86,42%; IC: 0,42-3,15) e 50mg/kg (0,004; média= 17,14; DP=10,12; poder= 94,90%; IC: 0,70-3,61) foram eficazes. De modo semelhante, a morfina apresentou efeito semelhante ($p=0,001$; média= 1,5; DP= 2,6; poder= 99%; IC: 1,26-4,58), conforme pode ser observado na figura 1.

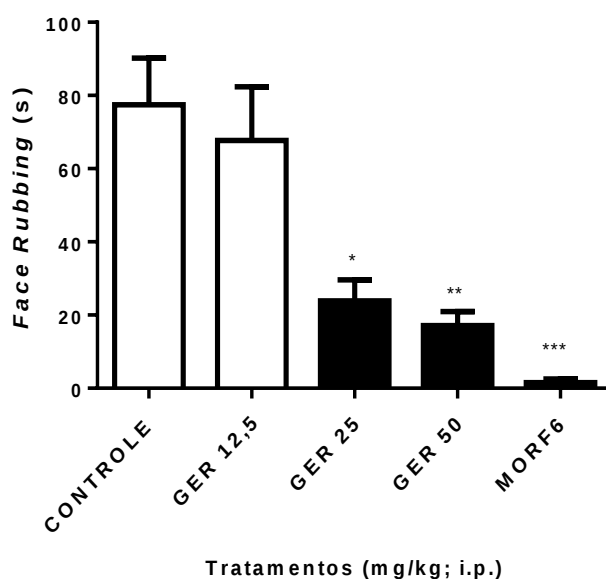


Figura 1- Efeito do geraniol na nocicepção orofacial induzida pelo glutamato. Controle (Tween 80%,0,2%) geraniol (12,5;25 e 50 mg/kg, i.p.); morfina (6mg/kg, i.p.). Valores foram expressos em média e DP (n=7, por grupo). $p^*= 0,01$; $p^{**}= 0,005$; $p^{***}=0,001$, versus controle (ANOVA one-way – teste T de variâncias heterogêneas)

O geraniol promoveu redução significativa na nocicepção induzida por capsaicina quando administrado nas doses de 25 mg/kg ($p=0,003$; média= 25,71; DP= 35,25; poder= 95,44%; IC= 0,62-3,68) e 50mg/kg ($p=0,01$; média=5,28; DP=12,68; poder=98,88%, IC: 1,16-4,40). A morfina apresentou efeito antinociceptivo quando administrada na dose de 6mg/kg ($p= 0,001$; média= 1,5, DP=2,63; poder= 99,14%, IC= 1,24-4,55). Estes resultados podem ser observados na figura 2.

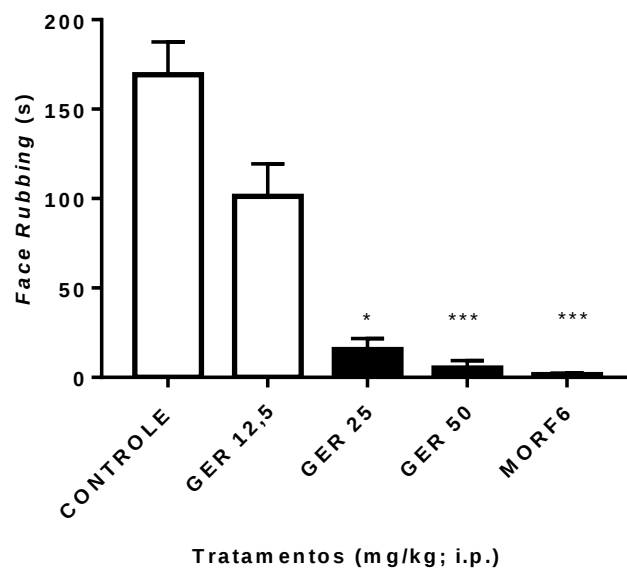


Figura 2- Efeito do geraniol na nocicepção orofacial induzida pela capsaicina. Controle (Tween 80%,0,2%) geraniol (12,5;25 e 50 mg/kg, i.p.); morfina (6mg/kg, i.p.). Valores foram expressos em média e DP (n=7, por grupo). $p^* = 0,003$; $p^{**} = 0,01$; $p^{***} = 0,001$, versus controle (ANOVA one-way, seguido de teste T de variâncias heterogêneas).

No teste de nocicepção induzida por formalina foram verificados os efeitos dos produtos testados em duas fases: neurogênica (1ª fase) e inflamatória (2ª fase). Na fase neurogênica, apenas a morfina apresentou valores estatisticamente significativos: $p = 0,0001$; média= 0,833; DP=1,16; poder= 99,99%, IC= 3,36-9,60.

Na fase inflamatória do teste da formalina, observou-se que concentração de 50mg/kg ($p = 0,01$; média= 95,66; DP= 27,69; poder= 89,99%, IC= 0,53-3,62) e morfina, 6mg/kg, i.p. ($p = 0,0008$, média= 0,83; DP= 1,16; poder= 99,79%; IC= 1,90-6,30) apresentaram efeito, conforme apresentado na figura 3.

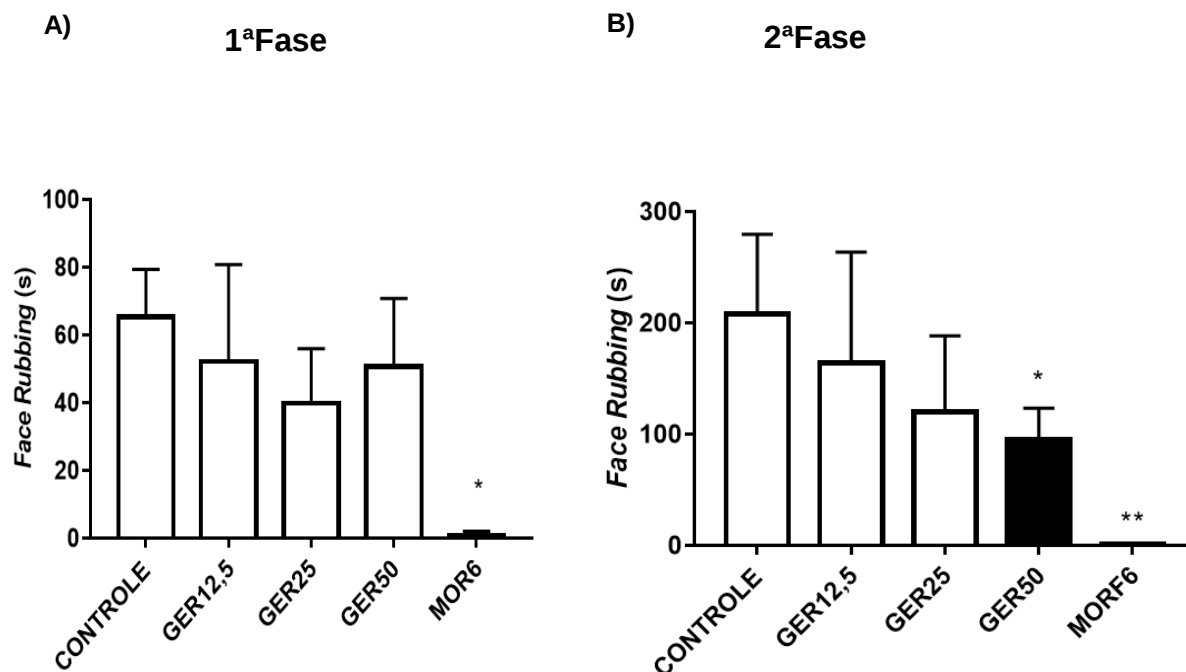


Figura 3(A) - Efeito do geraniol na nocicepção orofacial induzida pela formalina. Controle (Tween 80%,0,2%) geraniol (12,5;25 e 50 mg/kg, i.p.); morfina (6mg/kg, i.p.). Valores foram expressos em média e DP (n=7, por grupo). $p^*= 0,0001$; versus controle (ANOVA one-way, seguido de teste T de variâncias heterogêneas). (B) Efeito do geraniol na nocicepção orofacial induzida pelo glutamato. Controle (Tween 80%,0,2%) geraniol (12,5;25 e 50 mg/kg, i.p.); morfina (6mg/kg, i.p.). Valores foram expressos em média e DP (n=7, por grupo). $p^*= 0,01$; $p^{**}=0,0008$ (ANOVA one-way, seguido de teste T de variâncias heterogêneas).

Ancoragem molecular: *in silico*

A capacidade do geraniol se ligar aos receptores localizados nas fibras nervosas foi avaliada utilizando métodos de ancoragem molecular. A tabela 1 mostra as energias de ligação do geraniol com os receptores: receptor metabotrópico para o glutamato seis (mGlu6; PDB ID: 1S50); N-metil-D-aspartato (NMDA; PDB ID: 2A5S); ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico (AMPA; PDB ID: 3DLN); receptor opioide μ (μ ; PDB ID: 4DKL); receptor opioide kappa (κ ; PDB ID: 4DJH); receptor opioide delta (δ ; PDB ID: 4EJ4); receptor de potencial transitório vaniloide um (TRPV1; PDB ID: 5IRZ)

Tabela 1: Energias de ligação entre o geraniol e os receptores

PDB ID	Receptores						
	m Glur6 1S50	NMDA 2A5S	AMPA 3DLN	μ 4DKL	K 4DJH	δ 4EJ4	TRPV1 5IRZ
Energia (Kcal/mol)	-87.8501	-86.4451	-85.6755	-57.6318	-79.5355	-62.349	-68.5058

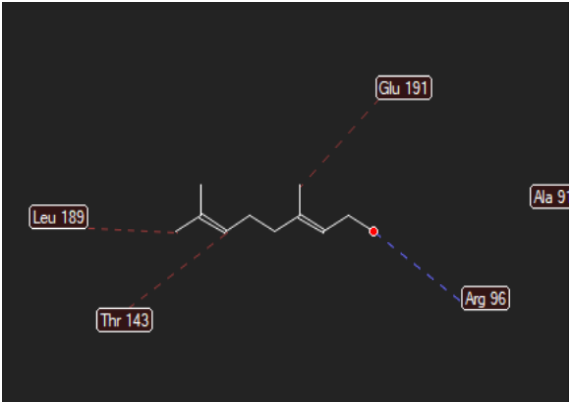
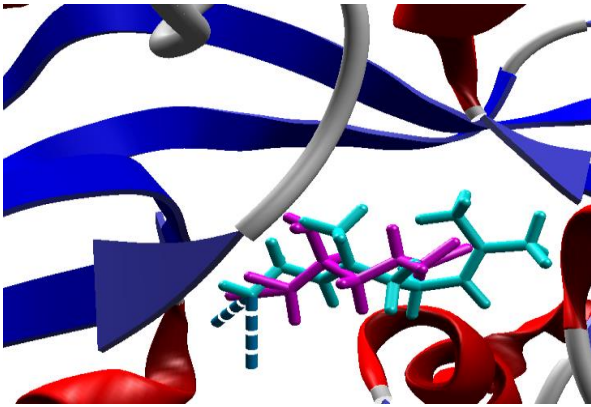


Figura 4 A- Ligação do geraniol (azul) no sítio ativo do receptor mGlu6 e suas interações.

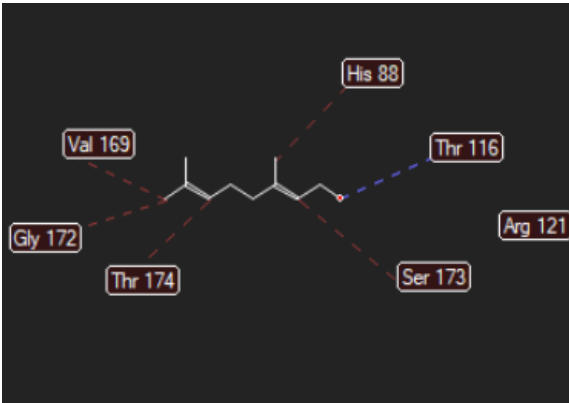
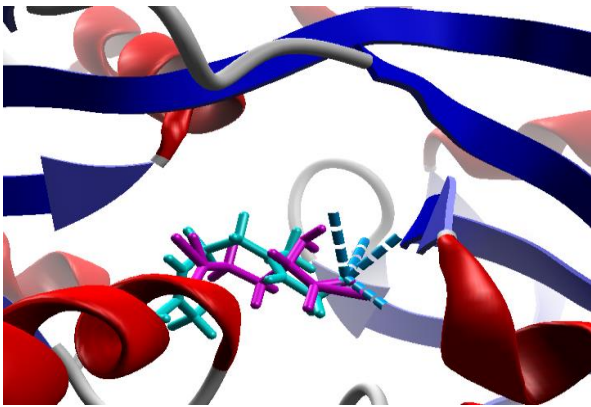


Figura 4B- Interação do geraniol (azul) no sítio ativo do receptor NMDA: *in silico*

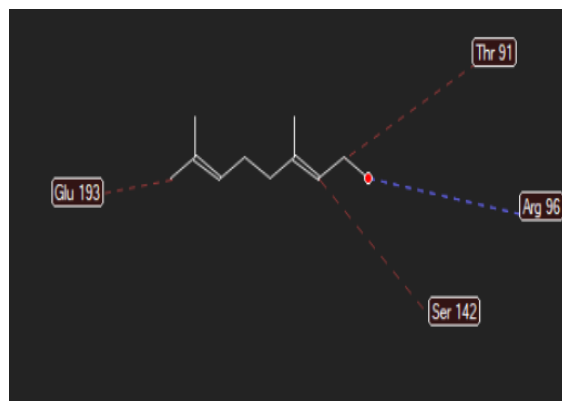
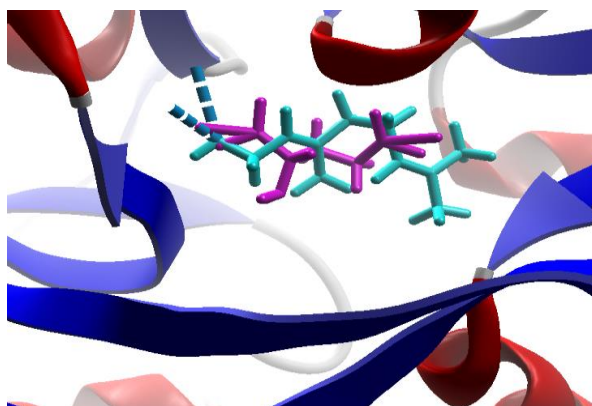


Figura 4C- Interação do geraniol (azul) no sítio ativo do receptor AMPA: *in silico*

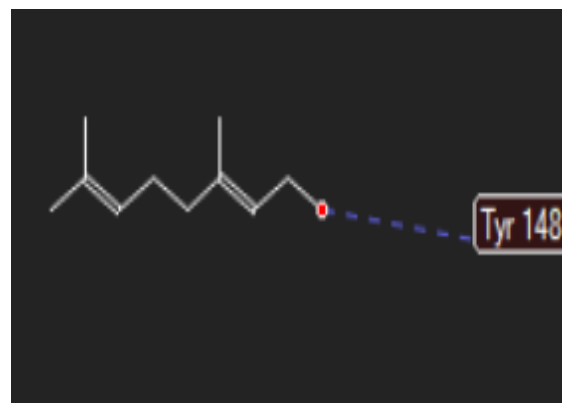
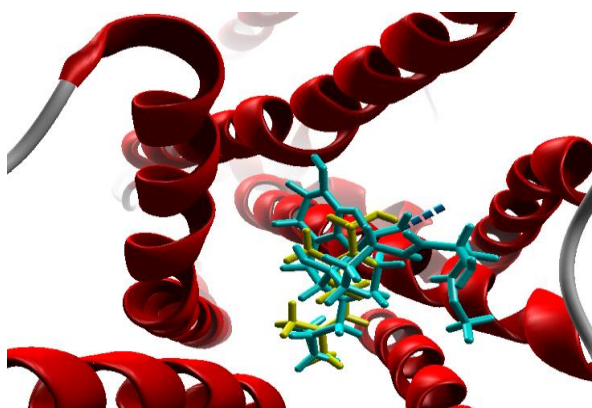


Figura 4D- Interação do geraniol (amarelo) no sítio ativo do receptor opioide μ : *in silico*

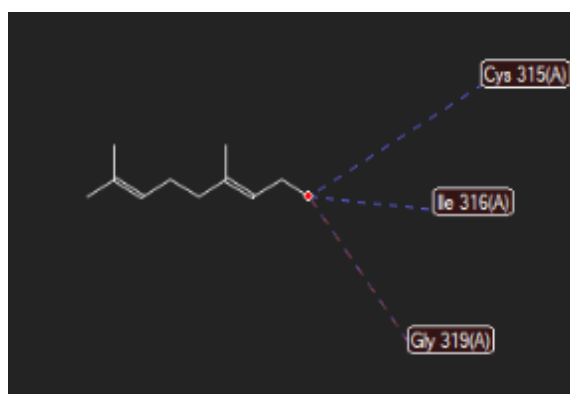
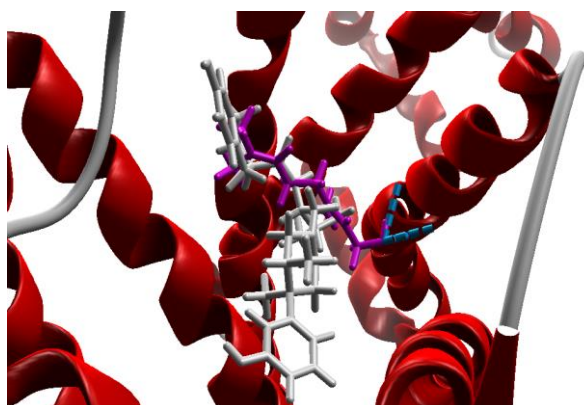


Figura 4E- Interação do geraniol (rosa) no sítio ativo do receptor opioide κ : *in silico*

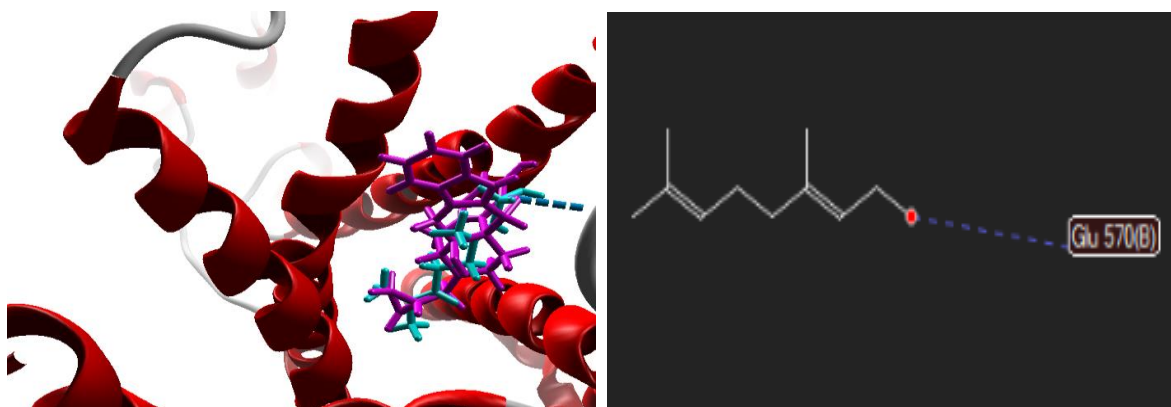


Figura 4F- Interação do geraniol (azul) no sítio ativo do receptor opioide δ : *in silico*

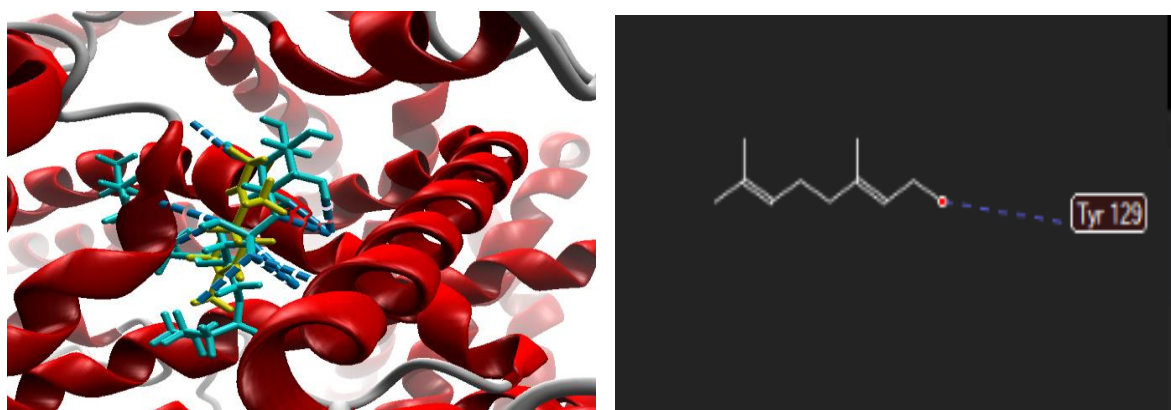


Figura 4G- Interação do geraniol (amarelo) no sítio ativo do receptor TRPV1: *in silico*

O estudo de ancoragem molecular apresentou elevados valores negativos de energias, com destaque para os receptores do glutamato mGluR MDS= -87.8501; NMDA MDS= -86.4451 e AMPA MDS= -85.6755. Analisando-se as interações do geraniol nos sítios de ligação desses receptores, houve a prevalência de ligações do tipo estéricas e ligações de hidrogênio.

DISCUSSÃO

Na região orofacial, as fibras A-delta e C conduzem estímulos nociceptivos ao nervo trigêmeo. Modelos de estudo em animais que utilizam a administração de substâncias indutoras na região (glutamato, capsaicina e formalina) são uma ferramenta relevante para o estudo da nocicepção e potencial desenvolvimento de novas drogas.

No presente estudo, o geraniol promoveu uma significativa redução na atividade antinociceptiva nas concentrações de 25 e 50 mg/kg pela injeção do glutamato na região de lábio superior direito. O glutamato é o aminoácido mais abundante no sistema nervoso central (SNC) e atua como um neurotransmissor excitatório envolvido na transmissão do estímulo nociceptivo através da ativação dos receptores glutamatérgicos^{23,24}.

O glutamato pode se ligar a receptores metabotrópicos ou ionotrópicos. Os receptores metabotrópicos (mGlu) tem sua ação mediada pela proteína G, como no caso mGlu6. Quando ativados, resultam na modulação do segundo mensageiro, na cascata bioquímica intracelular. Os ionotrópicos são aqueles nos quais o local de ligação do neurotransmissor é parte integrante de um canal iônico, como NMDA e o AMPA. São responsáveis pela transmissão sináptica rápida. Quando ativados, leva a um influxo de íon Ca^{2+} , ativação intracelular das vias metabólicas, além da produção e liberação do óxido nítrico (NO)^{19,25}. Os resultados desse estudo sugerem que o geraniol bloqueia a transmissão do estímulo nociceptivo pela via glutamatérgica através dos receptores referidos.

A capsaicina é o principal componente presente na pimenta vermelha, responsável pela sensação de queimação. Atua como um agente pró-inflamatório a partir do estímulo à liberação de neuropeptídeos, como a neuroquinona A, substância P e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) no nervo trigêmeo. É um agonista do receptor TRPV1. Este receptor está presente nas fibras A-delta e C dos neurônios aferentes primários. Quando ativado, promove o influxo de íons Ca^{2+} para o interior da célula, causando a despolarização da membrana e subsequente excitação celular^{26,27,28}. Na indução da nocicepção pela capsaicina, o geraniol, em doses de 25 e 50mg/kg, promoveu atividade antinociceptiva, sugerindo

que seu efeito farmacológico possa estar relacionado ao bloqueio do receptor TRPV1.

O teste da formalina é considerado um modelo não-clínico válido e confiável para avaliar a modulação dos estímulos nociceptivos orofaciais. A formalina, quando aplicada na região de lábio superior direito do animal, proporciona episódios de fricção facial. Esse teste é dividido em duas fases: a primeira fase ou neurogênica (0-5min) e a segunda fase (15-40min) ou inflamatória. O componente bifásico desse teste reflete dois diferentes mecanismos. A primeira fase corresponde à estimulação química das terminações nervosas nociceptivas do tipo C, que reflete dor mediada centralmente com a liberação de neuropeptídeos como a substância P. Na segunda fase observa-se a interação entre os sistemas nervosos central e periférico. Ocorre a liberação de aminoácidos excitatórios, óxido nítrico e peptídeos^{15,29}.

A administração do geraniol promoveu uma diminuição da atividade nociceptiva orofacial nos animais. Tal fato foi observado na segunda fase do experimento, apenas para a dose 50mg/kg. No estudo de La Rocca et al¹², o geraniol apresentou o mesmo comportamento, com mesma concentração. Dessa forma, pode-se inferir que a substância se apresenta como um potencial fármaco com ação anti-inflamatória para o tratamento das dores do complexo orofacial com ação central. O efeito anti-inflamatório do geraniol pode ser explicado pela sua participação na regulação de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) e redução dos níveis de TNF- α ³⁰.

Outros monoterpenos já tiveram sua atividade antinociceptiva orofacial relatada pela literatura. O estudo realizado por Silva et al³¹, observou que o cravacol, monoterpeno encontrado em óleos essenciais, e também sua associação com a β -ciclodextrina conseguiram reduzir a nocicepção orofacial em modelo de roedores. Venâncio et al³² utilizando o linalol, também conseguiram obter resultados semelhantes ao estudo anterior, com a mesma metodologia.

Brito et al³³ avaliaram a capacidade antinociceptiva do citronelol, um monoterpeno presente em plantas medicinais. As concentrações avaliadas foram de 25,50 e 100 mg/kg e todas apresentaram essa atividade através da ativação de áreas no SNC. Os resultados encontrados são semelhantes a presente pesquisa,

visto que as concentrações de 25 e 50mg/kg do geraniol também apresentaram o mesmo efeito.

Para melhor compreensão do efeito farmacológico antinociceptivo orofacial do geraniol, propusemos a análise de ancoragem molecular através da avaliação *in silico* das possíveis interações da molécula do geraniol com os receptores envolvidos na modulação da nocicepção, relacionando com os resultados obtidos com os ensaios *in vivo* realizados. Os resultados demonstram que a molécula avaliada promoveu ação nos receptores mGluR6, NMDA, AMPA, receptores opiodes μ , κ e δ , e TRPV1.

As maiores energias de ligação do geraniol aos receptores avaliados indicam provável ação pela via de transdução glutamatérgica. De modo semelhante, Santos et al³⁴, a partir da adoção do método de ancoragem molecular, verificaram que citrionelol, também um monoterpeno, apresenta capacidade teórica de interação ao receptor glutamatérgico GluR2. Verificou-se que a ligação dessa molécula ao receptor ocorreu através de elevados valores de energia e da interação através dos aminoácidos Arg-485, Glu-705, Thr-480, Ser-654, Pro-478 no sítio de ligação.

Os resultados obtidos nesse estudo, a partir dos ensaios experimentais em modelos com a utilização de camundongos, indicam efeito antinociceptivo do geraniol, com destaque para a dose de 50 mg/kg (i.p.), com provável ação sobre receptores glutamatérgicos, TRPV1 e receptores ativados por peptídeos excitatórios. Esses resultados corroboram com os achados obtidos a partir da análise teórica computacional, que referiu possível efeito da molécula em análise com os receptores mencionados, uma vez que foram observados altos valores de energia e de interação química, especialmente com receptores glutamatérgicos.

CONCLUSÃO

O geraniol apresenta atividade antinociceptiva orofacial em vias relacionadas a nocicepção induzida pelo glutamato, capsaicina e formalina, com evidências teóricas de maior interação química com receptores envolvidos com a via de transdução glutamatérgica.

REFERÊNCIAS

1. Leew R. Dor Orofacial: guia de avaliação, diagnóstico e tratamento. 4 ed. São Paulo: Quintessence; 2010.
2. Ruivo MA, Alves MC, Bérzin MGR, Bérzin F. Prevalence of pain at the head, face and neck and its association with quality of life in general population of Piracicaba city, Sao Paulo: na epidemiological study. Rev. Dor. 2015; 16(1): 15-21.
3. De Rossi SS. Orofacial Pain: a primer. Dent. Clin. North Am. 2013; 57(3): 382-392.
4. Tomoyasu Y, Higuchi H, Mori M, Takaya K, Honda Y, Yamane A, et al. Cronic orofacial pain in dental patients: retrospective investigation over 12 years. Acta Med. Okayama. 2014; 68(5): 269-275.
5. Khawaja N, Renton T. Pain part 3: Acute orofacial pain. Dent. Update. 2015; 42(5): 442-444.
6. Silva JC, Saraiva SRGL, Oliveira Júnior RG, Almeida JRGS. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. Rev. Bras. Farm. 2013; 94(1): 18-23.
7. Petrovska BB. Historical review of medinal plants' usage. Pharmacogn. Rev. 2012; 6(11): 1-5.
8. Queiroz GM, Souza-Moreira TM, Salgado HRN, Moreira RRD, Utrera SH, Martins CHG, et al. Antimicrobial activity and toxicity *in vitro* and *in vivo* of *Equisetum hyemale* extracts. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl. 2014; 35(4): 559-563.
9. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as source of new drugs from 1981 to 2014. J. Nat. Prod. 2016; 79(3): 629-661.
10. Lei Y, Fu P, Jun X, Cheng P. Pharmacological Properties od geraniol- a review. Plant. Med. 2018; 11: 1-8.
11. Lins LCRF, Andrade IM, Melo MS, Menezes PP, Araújo AA, Nunes RS, et al. The anticonvulsant effect of geraniol and inclusion complex geraniol: β – cyclodextrin. Bol Latinom Plantas do Caribe med aromat. 2014; 13(6):557-565.

12. La Rocca V, Fonsêca DV, Silva-Alves KS, Silva FWF, Sousa DP, Santos PL, et al. Geraniol induces anti-nociceptive effects in mice evaluated in behavioural and electrophysiological models. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2017;120(1):22-29.
13. Beirith A, Santos AR, Calixto JB. Mechanisms underlying the nociception and paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw. *Brain Reser.* 2002; 924(2): 219-228.
14. Tamaddonfard E, Tamaddonfard S, Pourbaba S. Effects of intra-fourth ventricle injection of crocin on capsaicin-induced orofacial pain in rats. *Avicenna J. Phytomed.* 2015; 5(5): 450-457.
15. Quitans-Júnior LS, Melo MS, De Sousa DP, Araujo AA, Onofre AC, Gelain DP, et al. Antinociceptive Effects of Citronellal in Formalin-, Capsaicin, and Glutamate-Induced Orofacial Nociception in Rodents and Its Action on Nerve Excitability. *J. Orofac. Pain.* 2010; 24(3):305-312.
16. Costantino CM, Gomes I, Stockton SD, Lim MP, Devi LA. Opioid receptor heteromers in analgesia. *Expert. Ver. Mol. Med.* 2012; 14(9):1-15.
17. Xin J, Su Y, Yang Z, He W, Shi H, Wang X, et al. Distinct roles of ASIC3 and TRPV1 receptors in electroacupuncture-induced segmental and systemic analgesia. *Front. Med.* 2016; 10(4):465- 472.
18. Chan K, MaassenVanDenBrink A. Glutamate Receptor Antagonists in the Management of Migraine. *Drugs.* 2014; 74(11): 1165-1176.
19. Hyperchem Program Release 8.0.5 for Windows. Hybercube, Inc.: Gainesville, FL, USA, 2008.
20. Dewar MJ, Zebisch EG, Healy EF, Stewart JJ. AM1: a new general-purpose quantum mechanical molecular model. *J. Am. Chem. Soc.* 1993; 115(12): 5348-5348.
21. Molegro Virtual Docker (MVD) for Windows. CLC Bio Company: Aarhus, Denmark, 2013.

22. Thomsen, R.; Christensen, M.H. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *J. Med Chem.* 2006; 49(11): 3315-3321.
23. Valli LG, Sobrinho JA. Mecanismo de ação do glutamato no sistema nervoso central e a relação com as doenças neurodegenerativas. *Rev. Bras. Neurol. Psiquiatr.* 2014; 18(1): 58-67.
24. Nascimento JET, Morais SM, Lisboa DS, Sousa MO, Santos SAAR, Alves FE, et al. The orofacial antinociceptive effect of Kaempferol-3-O-rutinoside, isolated from the plant *Ouratea fieldingiana*, on adult zebrafish (*Danio rerio*). *Biomed. Pharmacother.* 2018; 107: 1030-1036.
25. Rocha APC, Kraychete DC, Lemonica L, Carvalho LR, Barros, GAM, Garcia JBS, et al. Dor: Aspectos atuais da sensibilização periférica e central. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 2007; 57(1): 94-105.
26. Gregio AMT, Farias MM, Gomes MCB, Azevedo LR, Lima AAS, Machado MAN. Capsaicina e sua aplicação em odontologia. *Arq. Odontol.* 2008; 44(1): 45-48.
27. Komya H, Shimizu K, Noma N, Honda K, Kanno K, Ohara K, et al. Role of Neuron-Glial Interaction Mediated by IL-1 β in Ectopic Tooth Pain. *J.Dent.Res.* 2018; 97(4): 467-475.
28. Kooshi R, Abbasnejad M, Mahani Se, Raoof M, Aghtaei MMM, Dabiri S. Orexin A inhibits capsaicin-induced changes in cyclooxygenase-2 and brain-derived neurotrophic factor expression in trigeminal nucleus caudalis of rats. *Korean J. Pain.* 2018; 31(3): 174-182.
29. Silva JC, Macedo LARO, Souza GR, Oliveira-Júnior RG, Lima-Saraiva SRG, Lavor EM, et al. Orofacial antinociceptive effect of the ethanolic extract of *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae). *Z. Naturforsch.* 2016; 71(7-8): 209-214.
30. Yan LV, Zhang L, Li N, Mai N, Zhang Y, Pan S. Geraniol promotes functional recovery and attenuates neuropathic pain in rats with spinal cord injury. 2017; 95(12): 1389-1395.

31. Silva JC, Almeida JRGC, Quitans JSS, Gopalsamy RG, Shanmugam S, Serafini MR, et al. Enhancement of orofacial antinociceptive effect of carvacrol, a monoterpene present in oregano and thyme oils, by β -cyclodextrin inclusion complex in mice. *Biomed. Pharmacother.* 2016; 48: 454-461.
32. Venâncio AM, Marchioro M, Estevam CS, Melo MS, Santana MT, Onofre ASC, et al. *Ocimum basilicum* leaf essential oil and (-)-linalool reduce orofacial nociception in rodents: a behavioral and electrophysiological approach.
33. Brito RG, Prado DS, Santana MT, Araújo AAS, Bonjardim LS, Santos MRV, et al. Citronellol Reduces Orofacial Nociceptive Behaviour in Mice –Evidence of Involvement of Retrosplenial Cortex and Periaqueductal Grey Areas. *Basic. Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2013. 112(4): 215-221
34. Santos PL, Brito GR, Oliveira MA, Quitans JSS, Guimarães AG, Santos MRV. Docking, characterization and investigation of β -cyclodextrin complexed with citronellal, a monoterpene present in the essential oil of *Cymbopogon* species, as an anti-hyperalgesic agent in chronic muscle pain model. *Phytomed. Phytomed.* 2016; 23(9): 948-957.

3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os monoterpenos apresentam destacadas atividades farmacológicas, no entanto, ainda não havia na literatura relatos sobre mecanismos orofaciais. No presente estudo, utilizou-se o modelo de indução da nocicepção orofacial através da injeção de substâncias indutoras na região (glutamato, capsaicina e formalina) em camundongos. Esse modelo é considerado clássico para estudo da dor orofacial em animais, mas apresenta a limitação de avaliar apenas o caráter agudo da dor. Assim, percebe-se uma escassez de modelos animais e métodos confiáveis de medição comportamentos de dor que de fato retratem o contexto clínico da dor orofacial.

Nos dos testes realizados, o geraniol conseguiu reverter o comportamento nociceptivo orofacial nos animais, na concentração de 50mg/kg em todos os testes. A partir desse estudo, observou-se que esse monoterpeno se apresenta potencial fármaco para o tratamento da dor orofacial. Outros testes devem ser realizados para investigar seus mecanismos de ação, bem como avaliar sua atuação sobre quadros crônicos de dor e a partir da obtenção de resultados promissores, desenvolver um ensaio-clínico.

4. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados sugerem que o geraniol apresenta uma considerável ação antinociceptiva na concentração de 50mg/kg, além de apresentar forte interação com os receptores da via glutamatérgica que medeiam a nocicepção. Sugere-se que esse monoterpene se apresenta como um potencial fármaco para o tratamento das dores do complexo orofacial.

REFERÊNCIAS*

1. Leew R. Dor Orofacial: guia de avaliação, diagnóstico e tratamento. 4 ed. São Paulo: Quintessence; 2010.
2. Kandel ER, Schwartz JH. Jessell T. Princípios de Neurociência. 4ed. São Paulo: Manole: 2003.
3. Sessle BJ, Acute and Chronic Craniofacial Pain: Brainstem Mechanisms of Nociceptive Transmission and Neuroplasticity, and Their Clinical Correlates. Crit. Ver. Oral. Biol. 2000; 11(1):57-91
4. Rang, HP, Dale MM. Farmacologia. 7a ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2012.
5. Siqueira-Lima PS, Araújo AAS, Lucchese AM, Quitans JSS, Menezes PP, Alves PB, et al. β -Cyclodextrin Complex Containing Lippia grata Leaf Essential Oil Reduces Orofacial Nociception in Mice – Evidence of Possible Involvement of Descending Inhibitory Pain Modulation Pathway. Basic. Clin. Pharmacol. Toxicol. 2014; 114(2): 188-196.
6. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as source of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. J. Nat. Prod. 2012; 75(3): 311-335.
7. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as source of new drugs from 1981 to 2014. J. Nat. Prod. 2016; 79(3): 629-661.
8. Siqueira-Lima PS, Silva JC, Quitans JSS, Antonioli AR, Shanmugam S, Barreto RSS, et al. Natural products assessed in animal models for orofacial pain – a systematic review. Rev Bras. Farmacogn. 2017; 17(1):124-134.
9. Souza MTS, Guimarães AG, Araújo AAS, Quitans-júnior LS. Monoterpenes with anti-inflammatory: technological forecasting. Rev. Geintec. 2014; 4(2): 867-875
10. Mukthar YM, Adu- Frimpong M, Xu X, Yu J. Biochemical significance of limonene and its metabolites: future prospects for designing and developing highly potent anticancer drugs. Biosci. Rep. 2018;4: 1-36.
11. Guimarães AG, Quitans JSS, Quitans-Júnior LS. Monoterpenes with analgesic activity –A sistematic review. Phytoter. Res. 2012; 27(1): 1-15.

12. Lins LCRF, Andrade IM, Melo MS, Menezes PP, Araújo AA, Nunes RS, et al. The anticonvulsant effect of geraniol and inclusion complex geraniol: β – cyclodextrin. *Bol Latinom Plantas do Caribe med aromat.* 2014; 13(6):557-565.
13. Chen W, Viljoen AM. Geraniol- A review of a commercially important fragrance material. *S. African J. Bot.* 2010; 76(4): 643-651.
14. Deng XY, Xue JS, Li HY, Ma ZQ, Fu Q, Qu R, et al. Geraniol produces antidepressant-like effects in a chronic unpredictable mild stress mice model. *Physiol. Behav.* 2015; 152(1): 264-271.
15. Lei Y, Fu P, Jun X, Cheng P. Pharmacological Properties of geraniol- a review. *Plant. Med.* 2018; 11: 1-8.
16. Singh D, Kumar TR, Gupta VK, Chaturvedi P. Antimicrobial activity of some promising plant oils, molecules and formulations. *Indian. J. Exp. Biol.* 2012; 50(10): 717-717.
17. Andrade BFMT, Conti BJ, Santiago KB, Fernandes Júnior A, Sforcin JM. *Cymbopogon martinii* essential oil and geraniol at noncytotoxic concentrations exerted immunomodulatory/anti-inflammatory effects in human monocytes. *J. Pharm. Pharmacol.* 2014; 66(10): 1491-1496
18. Soubh AA, Abdallah DM, El-Abhar HS. Geraniol ameliorates TNBS-induced colitis: Involvement of Wnt/ β -catenin, p38MAPK, NF κ B, and PPAR γ signaling pathways. *Life Sci.* 2015; 136: 142-150
19. De Carvalho KI, Bonamin F, Santos RC, Périco LL, Beserra FP, Sousa DP, et al. Geraniol—a flavoring agent with multifunctional effects in protecting the gastric and duodenal mucosa. *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2014; 387(4): 355-365
20. Duncan RE, Lau D, El-Sohemy A, Archer MC. Geraniol and b-ionone inhibit proliferation, cell cycle progression, and cyclin-dependent kinase 2 activity in MCF-7 breast cancer cells independent of effects on HMG-CoA reductase activity. *Biochem. Pharmacol.* 2004; 68(9): 1379-1347.

21. Galle M, Crespo R, Kladniew BR, Villegas SM, Polo M, Bravo MG. Suppression by geraniol of the growth of A549 human lung adenocarcinoma cells and inhibition of the mevalonate pathway in culture and in vivo: potential use in cancer chemotherapy. *Nutr. Cancer*. 2014; 66(5): 888-895.
22. Kim SH, Bae HC, Park EJ, Lee CR, Kim BJ, Lee S, et al. Geraniol inhibits prostate cancer growth by targeting cell cycle and apoptosis pathways. *Biochem. Biophys. Res Commun*. 2011; 407(1): 129-134.
23. Cho M, So I, Chun JN, Jeon J-H. The antitumor effects of geraniol: Modulation of cancer hallmark pathways (Review). *Int. J. Oncol*. 2016; 48(5): 1772-1782.
24. Yan LV, Zhang L, Li N, Mai N, Zhang Y, Pan S. Geraniol promotes functional recovery and attenuates neuropathic pain in rats with spinal cord injury. 2017; 95(12): 1389-1395.
25. Silva JC, Macedo LA, Souza GR, Oliveira-Júnior RG, Lima-Saraiva SR, Lavor EM et al. Orofacial antinociceptive effect of the ethanolic extract of *Annona venetorum* Mart. (Annonaceae). *Z. Naturforsch*. 2016; 71:209-214
26. Paixão MS, Melo MS, Oliveira MGB, Santana MT, Damascena NP, Dias AS, et al. *Hyptis pectinata*: Redox Protection and Orofacial Antinociception. *Phytoter. Res*. 2013; 27(9):1328-1333.
27. Tomaz-Moraes JF, Braga RM, Sousa FB, Pordeus LCM, Almeida RN, Castro RD. Orofacial antinociceptive activity of (S)-(-)- perillyl alcohol in mice: a randomized, controlled and triple-blind study. *Oral Maxillofac Surgery*. 2017; 1-6.
28. La Rocca V, Fonsêca DV, Silva-Alves KS, Silva FWF, Sousa DP, Santos PL, et al. Geraniol induces anti-nociceptive effects in mice evaluated in behavioural and electrophysiological models. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2017;120(1):22-29.
29. Romero-Reyes M, Akerman S, Nguyen E, Vijjeswarapu A, Hom B, Dong W, et al. Spontaneous behavioural responses in the orofacial region: a model of a trigeminal pain in mouse. *Headache*. 2013; 53(1); 137-151.