



UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA – UFDPAr
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO
DEPARTAMENTO DE BIOMEDICINA

KAIQUE AGUIAR SOUZA

COMPOSTO FTALIMIDICO ACILHIDRAZÔNICO LASSBIO-753 APRESENTA
ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA EM MODELOS DE
INFLAMAÇÃO GERAL

PARNAÍBA-PI
2025

KAIQUE AGUIAR SOUZA

**COMPOSTO FTALIMIDICO ACILHIDRAZÔNICO LASSBIO-753 APRESENTA
ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA EM MODELOS DE
INFLAMAÇÃO GERAL**

Trabalho de conclusão do curso apresentado à
Universidade Federal do Delta do Parnaíba -
UFDPAr, em cumprimento à exigência para
obtenção do título de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Dr. André Luiz dos Reis Barbosa.

PARNAÍBA-PI
2025

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Delta do Parnaíba

S725c Souza, Kaique Aguiar

Composto ftalimidico acilhidrazônico LASSBio-753 apresenta atividade anti-inflamatória e antinociceptiva em modelos de inflamação geral [recurso eletrônico] / Kaique Aguiar Souza. – 2025.
59 f.

TCC (Bacharelado em Biomedicina) – Universidade Federal do Delta do Parnaíba, 2025.

Orientação: Prof. Dr. André Luiz dos Reis Barbosa.

1. LASSBio-753. 2. Inflamação. 3. Anti-inflamatório. 4. Analgésico. I. Título.


CDD: 616.0473

KAIQUE AGUIAR SOUZA


**COMPOSTO FTALIMIDICO ACILHIDRAZÔNICO LASSBIO-753 APRESENTA
ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA EM MODELOS DE
INFLAMAÇÃO GERAL**

Aprovado em: 25/06/2025


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **ANDRE LUIZ DOS REIS BARBOSA**
Data: 05/07/2025 14:31:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. André Luiz dos Reis Barbosa
Universidade Federal do Delta do Parnaíba- UFDP
(Orientador)

Documento assinado digitalmente
 **DIVA DE AGUIAR MAGALHAES**
Data: 08/07/2025 11:01:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Diva de Aguiar Magalhães
Universidade Federal do Delta do Parnaíba- UFDP

Documento assinado digitalmente
 **RAFAEL DA SILVA PRUDENCIO**
Data: 11/07/2025 13:56:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Me Rafael Da Silva Prudêncio
Universidade Federal do Delta do Parnaíba- UFDP

PARNAÍBA-PI
2025

DEDICATÓRIA

Primeiramente a Deus por todas as conquistas e aos meus pais e familiares por todo amor, carinho e apoio.

AGRADECIMENTOS

Ser biomédico de longe foi o meu primeiro sonho inicialmente quando saiu o resultado do SISU, mas iniciei o curso com a premissa de aprender novos conhecimentos, conhecer novas pessoas e lugares. Assim, finalizo este trabalho agradecendo o apoio e aos momentos vividos de diversas pessoas incríveis que conheci e me ajudaram nessa trajetória.

Inicialmente, quero agradecer a Deus por todas as conquistas adquiridas durante esta jornada de cinco anos.

Agradeço ao meu orientador de TCC e de iniciação científica, Dr André Luiz dos Reis Barbosa, por conceder a oportunidade de ser pesquisador através do meu projeto de IC, e por agir como um pai sendo uma pessoa incrível, justa e pelos conhecimentos compartilhados e auxílio na construção desse trabalho.

Agradeço também a Dra Diva de Aguiar Magalhães por sempre me ajudar durante a escrita dos trabalhos científicos, nos experimentos e em outros momentos no laboratório.

Quero agradecer também ao Me Rafael Prudêncio por me auxiliar juntamente com os outros membros da banca na organização da escrita no meu trabalho de conclusão de curso e também de vários momentos no laboratório.

Ademais, quero agradecer também ao Pedro Henrique, João Janilson e André Carvalho por serem excelentes amigos sempre me ajudando e apoiando nas atividades acadêmicas e pelos vários momentos de descontração e alegria.

Também agradeço aos demais membros do laboratório pelo apoio e conhecimento adquiridos nos últimos anos.

Aos meus pais Antônio Clímaco e Antônia Ribeiro, irmã Michelle Aguiar, avó materna Cecília Ribeiro e demais familiares e amigos da família por todo amor, carinho e apoio desde sempre.

Também quero agradecer a minha namorada Yslanni Dos Santos Oliveira por todo amor e carinho ao longo dos últimos meses.

Agradeço também aos meus amigos Douglas Matias, Marina Veras, Leonardo Pinho, Laisa Maria, Yan Victor, Breno Rodrigues, Naiane Penha, Bruna Severo, Alanys Fernandes, Plínio Marcos e várias outras pessoas que tive o privilégio de conhecer e presenciar vários momentos memoráveis ao longo desses últimos anos.

Agradeço também aos membros dos grupos do Ticas e do Ta Tendo Vólei por todos os momentos de amizade.

Aos meus amigos do ensino médio Catarina Freitas, José Fontenele e Lucivania Lima por proporcionarem momentos de descontração e alegria.

O meu profundo agradecimento às minhas amigas e companheiras de apartamento Maria Oliveira, Daffyne Cristine e Hellen dos Santos, pela ajuda que me proporcionaram ao longo deste processo.

Quero agradecer também aos professores do curso de Biomedicina por transmitirem o máximo de conhecimento prático e teórico durante os anos da graduação, e também à secretária da coordenação de Biomedicina, Neide, pelas conversas e pelo café.

“Só sei que nada sei”
-Sócrates

RESUMO

A inflamação é uma resposta fisiológica essencial a estímulos agressivos ao organismo. Tais estímulos promovem a produção de diversos mediadores inflamatórios associados a origem dos sinais cardinais da inflamação. O Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) é o principal mediador responsável pelo surgimento da dor (sensibilização dos nociceptores) e do edema (exsudação de componentes do sangue). Embora os Anti-inflamatórios Não Esteroidais (AINEs) sejam a principal escolha terapêutica para combater processos inflamatórios, estudos recentes têm destacado preocupações significativas quanto à hepatotoxicidade associada ao uso contínuo. A partir deste ponto, o LASSBio-753 (LB-753), é um derivado da combinação da talidomida (descrita na literatura com atividade anti-TNF- α) juntamente com N-acetildiazona, o qual pode ser um composto promissor na atenuação da inflamação e da dor. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade anti-inflamatória e antinociceptivas do LASSBio-753 em modelos experimentais de inflamação geral. Dessa forma, foram utilizadas camundongos fêmeas Swiss (n = 6) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Piauí (UFPI), e o projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais sob o número 008/2020. Para mensurar a ação anti-inflamatória, os animais foram inicialmente pré-tratados com dimetilsulfóxido a 4% (DMSO 4%) (Controle Positivo) via intraperitoneal (i.p) ou LASSBio-753 nas doses de 0,1; 1,0 e 10 mg/kg (Grupos testes) ou indometacina 10mg/kg (fármaco de referência) (apenas no edema de carragenina) ambos por via oral (v.o). Posteriormente, foram submetidos à administração de carragenina (Cg) 500 μ g ou histamina (Hist) (100 μ g) ou serotonina (5-HT) (100 μ g) na pata. O edema de Cg foi utilizado para escolher a melhor dose deste composto com ação anti-inflamatória, que foi utilizado em experimentos subsequentes (incluindo o de Hist e 5-HT). O agente inflamatório Cg também foi utilizado para induzir peritonite em camundongos e o fluido peritoneal foi extraído para quantificar os níveis de TNF- α usando o imunoenensaio ELISA sanduíche. Para o ensaio, os animais foram previamente tratados de forma semelhante ao edema de Cg, no qual receberam solução de DMSO 4% (i.p) ou LB-753 (melhor dose) ou indometacina 10mg/kg v.o. Finalmente, o experimento de contorções abdominais com ácido acético foi realizado para avaliar os efeitos analgésicos do derivado semissintético, no qual os animais foram previamente tratados com DMSO 4% (i.p) ou morfina 5mg/kg subcutânea ou LASSBio-753 (melhor dose) v.o. Os resultados de Cg, Hist e edema de 5-HT demonstraram que o LB-753 possui efeito anti-inflamatório, reduzindo significativamente ($p>0,05$) o edema em comparação ao grupo controle positivo. Da mesma forma, no ensaio de TNF- α do fluido peritoneal, o LB-753 reduziu significativamente a concentração da citocina inflamatória em comparação ao grupo controle positivo. Além disso, esse semissintético demonstrou propriedades analgésicas, por reduzir quantitativamente e significativamente o número de contorções abdominais em comparação ao grupo tratado com DMSO 4%. Assim, os resultados dos experimentos demonstraram que o composto semissintético LASSBio-753 apresenta atividade anti-inflamatória por reduzir os edemas induzidos por carragenina, histamina e serotonina e ao mesmo tempo analgésica pela redução do número de contorções abdominais. Tais efeitos terapêuticos estão diretamente relacionados a potencial anti-TNF- α do composto, conforme evidenciado no ensaio de peritonite induzida por carragenina. Dessa forma, tal molécula apresenta suas atividades biológicas através da modulação negativa da ação TNF- α sobre a migração celular, síntese de outros mediadores inflamatórios e sensibilização dos nociceptores.

Palavras-chave: LASSBio-753; Inflamação; Anti-inflamatório; Analgésico.

ABSTRACT

A inflamação é uma resposta fisiológica essencial a estímulos agressivos ao organismo. Tais estímulos promovem a produção de diversos mediadores inflamatórios associados a origem dos sinais cardinais da inflamação. O Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) é o principal mediador responsável pelo surgimento da dor (sensibilização dos nociceptores) e do edema (exsudação de componentes do sangue). Embora os Anti-inflamatórios Não Esteroidais (AINEs) sejam a principal escolha terapêutica para combater processos inflamatórios, estudos recentes têm destacado preocupações significativas quanto à hepatotoxicidade associada ao uso contínuo. A partir deste ponto, o LASSBio-753 (LB-753), é um derivado da combinação da talidomida (descrita na literatura com atividade anti-TNF- α) juntamente com N-acihidrazona, o qual pode ser um composto promissor na atenuação da inflamação e da dor. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade anti-inflamatória e antinociceptivas do LASSBio-753 em modelos experimentais de inflamação geral. Dessa forma, foram utilizadas camundongos fêmeas Swiss (n = 6) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Piauí (UFPI), e o projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais sob o número 008/2020. Para mensurar a ação anti-inflamatória, os animais foram inicialmente pré-tratados com dimetilsulfóxido a 4% (DMSO 4%) (Controle Positivo) via intraperitoneal (i.p) ou LASSBio-753 nas doses de 0,1; 1,0 e 10 mg/kg (Grupos testes) ou indometacina 10mg/kg (fármaco de referência) (apenas no edema de carragenina) ambos por via oral (v.o). Posteriormente, foram submetidos à administração de carragenina (Cg) 500 μ g ou histamina (Hist) (100 μ g) ou serotonina (5-HT) (100 μ g) na pata. O edema de Cg foi utilizado para escolher a melhor dose deste composto com ação anti-inflamatória, que foi utilizado em experimentos subsequentes (incluindo o de Hist e 5-HT). O agente inflamatório Cg também foi utilizado para induzir peritonite em camundongos e o fluido peritoneal foi extraído para quantificar os níveis de TNF- α usando o imunoensaio ELISA sanduíche. Para o ensaio, os animais foram previamente tratados de forma semelhante ao edema de Cg, no qual receberam solução de DMSO 4% (i.p) ou LB-753 (melhor dose) ou indometacina 10mg/kg v.o. Finalmente, o experimento de contorções abdominais com ácido acético foi realizado para avaliar os efeitos analgésicos do derivado semissintético, no qual os animais foram previamente tratados com DMSO 4% (i.p) ou morfina 5mg/kg subcutânea ou LASSBio-753 (melhor dose) v.o. Os resultados de Cg, Hist e edema de 5-HT demonstraram que o LB-753 possui efeito anti-inflamatório, reduzindo significativamente ($p > 0,05$) o edema em comparação ao grupo controle positivo. Da mesma forma, no ensaio de TNF- α do fluido peritoneal, o LB-753 reduziu significativamente a concentração da citocina inflamatória em comparação ao grupo controle positivo. Além disso, esse semissintético demonstrou propriedades analgésicas, por reduzir quantitativamente e significativamente o número de contorções abdominais em comparação ao grupo tratado com DMSO 4%. Assim, os resultados dos experimentos demonstraram que o composto semissintético LASSBio-753 apresenta atividade anti-inflamatória por reduzir os edemas induzidos por carragenina, histamina e serotonina e ao mesmo tempo analgésica pela redução do número de contorções abdominais. Tais efeitos terapêuticos estão diretamente relacionados a potencial anti-TNF- α do composto, conforme evidenciado no ensaio de peritonite induzida por carragenina. Dessa forma, tal molécula apresenta suas atividades biológicas através da modulação negativa da ação TNF- α sobre a migração celular, síntese de outros mediadores inflamatórios e sensibilização dos nociceptores.

Palavras-chave: LASSBio-753; Inflamação; Anti-inflamatório; Analgésico.

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	Serotonina
AA	Ácido Araquidônico
AIEs	Anti-inflamatórios Esteroidais
AINEs	Anti-inflamatórios Não Esteroidais
ANOVA	Análise de variância
Cg	Carragenina
CLRs	Receptor Lectina tipo C
COX	Ciclo-Oxigenase
CP	Controle positivo
CRBN	Cereblon
DAMPs	Padrões Moleculares Associados ao Dano
DMSO	Dimetilsulfóxido
ES	Enantiômero S
EPM	Erro Padrão da Média
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
GT	Grupo tratamento
Hist	Histamina
I.P	Intraperitoneal
I.PI	Intraplantar
IA	Inteligência Artificial
ICAMs	Moléculas de Adesão Celular
ILs	Interleucinas
M	Molaridade
NAHs	N-acilhidrazonas
NF-Kb	Fator de Transcrição Nuclear Kappa B
PAMPs	Padrões Moleculares Associados ao Patógeno
PGE2	Prostaglandina E2
PLA2	Fosfolipase A2
PRRs	Receptores de reconhecimento de padrões
Sal	Salina
SNC	Sistema Nervoso Central

Th	Padrão de células T Helper
TNFs	Fatores de Necrose Tumoral
TNFR1	Receptor 1 do Fator de Necrose Tumoral
SUP	Sistema Ubiquitina-Proteassoma
V.o	Via oral
Vo	Volume basal
Vt	Volume em determinado intervalo de tempo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da formação do edema.....	20
Figura 2: Cascata inflamatória mediada pelas enzimas (FA2) e COX-2, e efeitos da PGE2	24
Figura 3: Diagrama ilustrativo do arco reflexo da dor	28
Figura 4: Representação esquemática da hiperalgesia mediada por nociceptores em um foco inflamatório	29
Figura 5: Mecanismo de ação dos Anti-inflamatórios Esteroidais (AIEs) e Não Esteroidais (AINEs)	30
Figura 6: Estrutura química do LASSBio-753.....	33
Figura 7: Estrutura química dos enantiômeros ópticos da talidomida	34
Figura 8: Mecanismo de teratogenicidade da talidomida.....	34
Figura 9: Grupos experimentais.....	37
Figura 10: Esquematização do ensaio edema de pata induzido por carragenina	38
Figura 11: Esquematização do ensaio edema de pata induzido mediadores vasoativos	39
Figura 12: Esquematização do ensaio peritonite induzida por carragenina.....	40
Figura 13: Esquematização do ensaio contorção induzida por ácido acético.....	41
Figuras 14A e 14B: Atividade Anti-inflamatória do LASSBio- 753 sobre o edema de pata induzido por histamina e serotonina	44
Figura 15: Atividade anti-TNF- α do LASSBio- 753 no lavado peritoneal induzido por carragenina	45
Figura 16: Atividade anti-inflamatória do LASSBio- 753 sobre contorção abdominal induzido por ácido acético	46

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Atividade Anti-inflamatória do LASSBio-753 sobre o edema de carragenina	42
--	-----------

SÚMARIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 Resposta inflamatória	18
2.2 Mediadores envolvidos na inflamação	21
2.2.1 Conceito de mediadores inflamatórios e aminas vasoativas.....	21
2.2.2 Eicosanoides derivados do ácido araquidônico.....	23
2.2.3 Citocinas pró inflamatórias.....	25
2.3 Dor e hiperalgesia	27
2.4 Principais classes de fármacos anti-inflamatórios e analgésicos	29
2.5 Química medicinal, conceito e inovações	31
2.6 LASSBio-753, semissintético derivado da talidomida e da N-acilhidrazona	32
3. OBJETIVOS	35
3.1 Objetivo geral	36
3.2 Objetivos específicos	36
4. METODOLOGIA	36
4.1 Animais utilizados para os protocolos experimentais e questões éticas.....	36
4.2 Delineamento experimental	36
4.3 Ensaios experimentais utilizados para a avaliação do potencial anti-inflamatório e analgésico	37
4.3.1 Edema de pata induzido por carragenina	37
4.3.2 Edema de pata induzida por mediadores	38
4.3.3 Dosagem de TNF- α do lavado peritoneal induzido por carragenina.....	39
4.3.4 Teste de contorção abdominal induzida por ácido acético.....	41
4.4 Análise estatística	41
5. RESULTADOS	42
5.1 Atividade do LASSBio-753 no edema de pata induzido por carragenina....	42
5.2 Ação do LASSBio-753 sobre o edema de pata induzido por histamina e serotonina	43
5.3 Atividade anti-TNF-α do LASSBio- 753 no lavado peritoneal induzido por carragenina.....	44
5.4 Atividade do LASSBio- 753 em teste de contorção abdominal induzido por ácido acético	45
6. DISCUSSÃO	46
7. CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
ANEXO I - Carta de aprovação no Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)	59

1. INTRODUÇÃO

A inflamação é uma resposta fisiológica do organismo a estímulos agressivos, que podem ser de natureza química, física e biológica, como, por exemplo, exposição a produtos tóxicos e a microrganismos. Esse mecanismo permite que o organismo se defenda contra os estímulos nocivos, sendo assim, essencial para a sobrevivência (Dos *et al.*, 2022). Os sinais cardinais da inflamação (edema, dor, rubor, calor e perda de função) são resultantes de alterações no sítio inflamatório, decorrentes de modificações de expressões gênicas que ocorrem tanto em células residentes quanto em leucócitos (Calabriso *et al.*, 2023; Behrens *et al.*, 2024).

Essas alterações induzem a expressão de diversos mediadores químicos e moléculas de adesão, os quais desempenham um papel crucial na mediação dos principais fenômenos inflamatórios, como o aumento da permeabilidade vascular e a migração celular. Assim, tais fenômenos promovem a exsudação de componentes plasmáticos e celulares do sangue, promovendo alterações no tecido inflamado, conhecido como inchaço ou edema. De início, mediadores vasoativos, como histamina e serotonina promovem a vasodilatação de vasos próximos ao sítio inflamatório, assim permitindo uma maior permeabilidade vascular e o aumento do fluxo sanguíneo (Gray *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022). Posteriormente, ocorre a fase de exsudação celular a partir da migração de células do sistema imune para o sítio inflamatório a partir do processo de diapedese advindo de fatores, como fatores quimiotáticos e citocinas pró inflamatórias (Calabriso *et al.*, 2023; Khan *et al.*, 2024).

Os mediadores químicos, como o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) também induzem a dor através da sensibilização de canais iônicos presentes na membrana plasmática de neurônios sensoriais da dor, conhecidos também como nociceptores (De Magalhães *et al.*, 2021). A partir dessa interação, as sinapses neuronais ficam hipersensíveis e começam a captar e transmitir mais estímulos, sejam estes derivados diretamente ou indiretamente da resposta inflamatória, e transmitem o sinal para o sistema nervoso central (Rani *et al.*, 2022; Jiang *et al.*, 2023).

Assim como ocorre na formação do edema, o calor e o rubor observados no processo inflamatório resultam do aumento do fluxo sanguíneo na região afetada, um fenômeno conhecido como hiperemia (Singh *et al.*, 2021). Por fim, a perda da função de um órgão decorre de um processo inflamatório significativo e, na maioria dos casos,

crônico. Esse processo resulta na incapacidade do órgão afetado de desempenhar suas atividades fisiológicas normais, uma vez que a inflamação persistente compromete sua estrutura e função. (Hellenbrand *et al.*, 2021).

Atualmente, existem uma gama de fármacos utilizados com propriedades anti-inflamatórias e analgésicas. O arcabouço de medicamentos disponíveis no mercado, no qual a maioria é pertencente a classe dos Anti-inflamatórios Não Esteroidais (AINEs), como alguns exemplos, o ácido acetilsalicílico, nimesulida e o ibuprofeno (Ha *et al.*, 2021; Sinniah *et al.*, 2021). Entretanto, tais moléculas ativas possuem uma gama de efeitos colaterais ou até tóxicos em pacientes que utilizam de forma crônica como, por exemplo, gastrite e esteatose hepática medicamentosa (Silva *et al.*, 2020; Baldo *et al.*, 2021).

Nesse sentido, a química medicinal surge com a finalidade de diminuir efeitos colaterais de medicamentos comercializados a partir da combinação de tais moléculas com compostos bioativos presentes na natureza (Chaganti *et al.*, 2024). Estudo recentes como o de Jung e colaboradores (2023), vêm confirmando a eficácia anti-inflamatória de compostos que apresentam em sua estrutura o anel ftalimídico com propriedade anti-TNF- α . A talidomida é uma molécula ftalimidica mais conhecida, ganhando notoriedade por sua atividade antiemética e sedativa, e posteriormente foi reconhecido propriedades imunomoduladoras. Contudo, sua comercialização foi proibida devido à associação dos enantiômeros ópticos da talidomida ao seu efeito teratogênico. Apesar disso, novas pesquisas ressalvam a criação de moléculas que apresentam o radical ftalímida com o intuito de apresentar atividade imunomoduladora sem apresentar os efeitos colaterais e tóxicos. A partir disso surgiu o LASSBio-753, uma nova molécula ftalimidica semissintética sintetizada a partir da combinação entre análogos da talidomida com grupamentos N-acilhidrazonas com atividade anti-Ciclooxigenase-2 (anti-COX-2) (Nascimento *et al.*, 2019). Assim, o LASSBio- 753 é uma molécula promissora por em tese, suas duas subunidades apresentarem efeito imunomodulador. No entanto, são necessários ensaios pré-clínicos para elucidar seus efeitos terapêuticos em ensaios experimentais. (Sousa *et al.*, 2024; Da Silva *et al.*, 2025). Dessa forma, o presente experimento tem como objetivo avaliar os efeitos anti-inflamatório e analgésico do composto ftalimidico acilhidrazônico LASSBio-753 em ensaios experimentais de inflamação aguda.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Resposta inflamatória

A inflamação é uma resposta protetiva do corpo acionada a partir da detecção de estímulos nocivos ou de moléculas não próprios do organismo, como lesão tecidual provocada por radiação ultravioleta ou pela detecção de moléculas não próprias de microrganismos (Roe *et al.*, 2021). Portanto, o processo inflamatório tem como objetivo final restabelecer a homeostase do organismo através da eliminação do agente agressivo seguido de processos reparativos eficientes, assim, restabelecendo as funções normais do tecido, no qual anteriormente foi o sítio inflamatório. Em ambos os casos são produzidos uma série de mediadores pró-inflamatórios, os quais ao se ligarem a respetivos recetores, modulam diversos processos relevantes na inflamação, como migração e ação celular (Zhang *et al.*, 2022; Jung *et al.*, 2023).

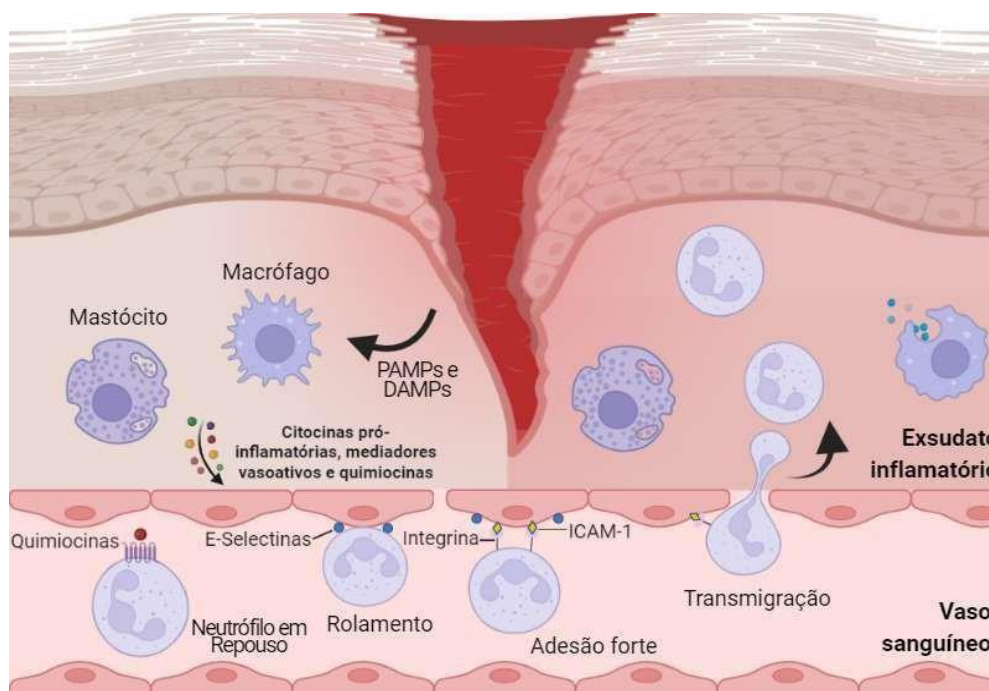
O processo inflamatório, em sua totalidade, é sequencialmente dividido em quatro fases, cada qual demarcada por eventos específicos e pelo desenvolvimento de sinais e sintomas característicos, conhecidos como os sinais cardinais da inflamação (Zigterman *et al.*, 2022). A fase inicial, denominada fenómeno irritativo, deflagra o processo inflamatório a partir do reconhecimento de padrões moleculares específicos. Células especializadas da imunidade inata são capazes de criar nichos regionais e tecidos com função de detectar Padrões Moleculares associados ao patógeno (PAMPs - Pathogen-Associated Molecular Patterns) ou a Dano Tecidual (DAMPs - Damage-Associated Molecular Patterns). Tais moléculas são detectadas por Receptores de Reconhecimento de Padrões (PRRs) presentes na superfície de leucócitos. Os PRRs pertencem a diversas famílias de proteínas de reconhecimento (Soares *et al.*, 2023). Células residentes no tecido, como macrófagos e mastócitos, captam tais padrões moleculares, no qual culmina em uma cascata de segundos mensageiros, cuja finalidade é ativar a expressão de diversos mediadores químicos responsáveis por modular os fenómenos inflamatórios, como o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), além de enzimas importantes para sintetizar outros mediadores, como a Ciclooxygenase-2 (COX-2) (Gray *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022). Tais mediadores são de suma importância para as fases subsequentes e para o aparecimento dos sinais cardinais da inflamação, com destaque o edema e a dor por estarem intimamente relacionados aos fenómenos inflamatórios (Mamede *et al.*, 2020;

Kumar *et al.*, 2021).

As próximas fases são marcadas pelos fenômenos vasculares e celulares, no qual os mediadores inflamatórios sintetizados por células residentes na fase anterior promovem a vasodilatação de vasos sanguíneos próximos ao sítio inflamatório, e também atuam como fatores quimiotáticos para o recrutamento de leucócitos. As células endoteliais, que revestem o interior dos vasos sanguíneos, expressam receptores específicos em sua superfície para diversas moléculas, como histamina, serotonina, bradicinina e prostaglandinas (Sousa *et al.*, 2024; Khan *et al.*, 2024). A interação dessas moléculas com seus receptores desencadeia um sinal intracelular que leva à alterações nas células endoteliais. Esse processo resulta em aumento da permeabilidade vascular local, permitindo a passagem de substâncias e, posteriormente, de leucócitos do sangue para o espaço intersticial, onde podem atuar em processos inflamatórios e no reparo tecidual (Jiang *et al.*, 2020; Bernardino *et al.*, 2021).

A fase celular é marcada pela migração de leucócitos presentes no sangue para o tecido acometido pela inflamação, processo este conhecido como diapedese. Inicialmente, citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , atuam como sinalizadores ao interagirem com as células do endotélio, preparando-o para o processo de diapedese a partir da expressão de proteínas de adesão celular (Figura 1) (Calabriso *et al.*, 2023; Khan *et al.*, 2024). Essas macromoléculas são subdivididas em dois grupos distintos a depender do tipo de ligação que a mesma promove com moléculas presentes nos leucócitos. Ademais, quimiocinas liberadas no processo inflamatório induzem a ativação das integrinas, principais moléculas presentes nos glóbulos brancos responsáveis pela adesão forte às proteínas no endotélio (Chen *et al.*, 2020; Sousa *et al.*, 2024; Kureshi *et al.*, 2025).

Figura 1: Representação esquemática da formação do edema.



Legenda: Inicialmente, células inflamatórias presentes no tecido detectam PAMPs e DAMPs, os quais induzem a expressão e liberação de diversas substâncias bioativas no sítio inflamatório. Tais substâncias atuam aumentando a permeabilidade vascular e o fluxo sanguíneo local (mediadores vasoativos) ou promovendo o processo de diapedese dos leucócitos (Citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas) fenômenos vasoativos.

Fonte: Autoria própria.

O primeiro grupo de moléculas são conhecidas como selectinas, e elas são conhecidas por apresentar uma adesão fraca aos oligossacarídeos presentes nas superfícies dos glóbulos brancos. Essas moléculas permitem que os leucócitos dispostos na circulação sanguínea iniciem os processos de marginalização celular e rolamento. A E-selectina é a principal proteína dessa classe de moléculas, sendo induzida a expressão e disposição na superfície celular mediante a sinalização de TNF- α (Chen *et al.*, 2020; Park *et al.*, 2023). Já a segunda classe pertence às Moléculas de Adesão Celular (ICAMs) são um agrupamento de glicoproteínas responsáveis pela adesão forte dos leucócitos ao endotélio. A ICAM-1 é a principal molécula que participa do processo de ancoragem forte ao ligar firmemente as integrinas. A transmigração leucocitária, que se dá pela passagem dessas células pelas junções endoteliais promovida pelo aumento da permeabilidade vascular, culmina na formação do edema (Park *et al.*, 2023; Kureshi *et al.*, 2025). Este sinal cardinal da inflamação é, portanto, uma consequência direta da exsudação de

componentes plasmáticos e células inflamatórias para o tecido-alvo, consolidando a intrínseca conexão das fases vascular e celular da inflamação (Hijazy *et al.*, 2022; Aguchi *et al.*, 2024; Sousa *et al.*, 2024).

Por fim, o fenômeno resolutiva marca o fim das etapas do processo inflamatório e ao mesmo tempo é um dos fatores de análise para a diferenciação entre inflamação aguda e crônica. A inflamação aguda é marcada pela ação direta de células da imunidade inata, como neutrófilos e monócitos, com processo resolutivo rápido e eficiente através do desbalanço da expressão de genes com finalidade pró inflamatória pelo aumento de substâncias anti-inflamatórias, como o cortisol e os lipoxinas (Panigrahy *et al.*, 2021; Eltay *et al.*, 2023). Já a inflamação crônica é marcada pela persistência do agente lesivo durante por mais de seis meses, ocasionando o aumento do dano indireto da resposta imune ao tecido e a falta de um processo resolutivo eficiente (Roe *et al.*, 2021; Jiang *et al.*, 2023).

2.2 Mediadores envolvidos na inflamação

2.2.1 Conceito de mediadores inflamatórios e aminas vasoativas

O processo inflamatório como um todo é coordenado por um complexo grupo de substâncias denominadas mediadores inflamatórios, os quais podem ser sintetizados tanto por células residentes do tecido e da circulação, quanto podem estar presentes de forma inativa no plasma. Tal grupo de moléculas apresentam duas funções fundamentais no processo inflamatório, sendo estas funções atuar diretamente na microvasculatura ou agirem como fatores quimiotáticos (Gray *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022). Os mediadores sintetizados por células podem ser contidos em grânulos, como a histamina presente nos mastócitos, ou sintetizadas mediante a um estímulo nocivo, como as prostaglandinas e as citocinas inflamatórias (Da Silva *et al.*, 2025). Assim, cada mediador inflamatório desempenha um papel fundamental na inflamação, podendo intensificar ou atenuar a resposta inflamatória, dependendo do seu mecanismo de ação. As principais classes de mediadores incluem as aminas vasoativas, como a histamina e a serotonina, os metabólitos derivados do ácido araquidônico (produzidos pelas vias da ciclooxigenase), e citocinas pró-inflamatórias, com destaque o TNF- α (De Magalhães *et al.*, 2021; Nguyen *et al.*, 2021; Park *et al.*, 2023).

A histamina é uma importante amina formada a partir da descarboxilação do

aminoácido histidina, apresenta uma notória ação em diferente em diversos tecidos do organismo, como no Sistema Nervoso Central (SNC), mucosa gástrica e em células inflamatórias como os mastócitos (Sousa *et al.*, 2025). Do ponto de vista da inflamação, a histamina é o principal mediador inflamatório pré-formado, a qual é armazenado e posteriormente liberado dos grânulos dos mastócitos, basófilos e plaquetas em casos de estímulos nocivos ou traumáticos (Panula *et al.*, 2021; Sousa *et al.*, 2025). A histamina pode desempenhar diversas atividades biológicas devido a interação direta com cada um dos quatro subtipos de receptores histamínicos acoplados à proteína G (Sarasola *et al.*, 2021).

O receptor H1 é o principal responsável pela vasodilatação observada em processos inflamatórios e alérgicos. Esse fenômeno ocorre quando os receptores H1, localizados no músculo liso dos capilares sanguíneos, interagem com a histamina (Alkotob *et al.*, 2020). Essa interação provoca a ativação da proteína G, o que resulta na produção de segundos mensageiros específicos que ativam vias de sinalização intracelulares, com destaque para o aumento da concentração citoplasmática de Ca^{2+} , a ativação de enzimas, principalmente a Fosfolipase A2 e a Óxido Nítrico Sintase (Sarasola *et al.*, 2021). Esses processos promovem a contração da musculatura lisa e estimulam a produção e liberação exócrina de outros mediadores vasoativos, como prostaglandinas e óxido nítrico. Como resultado, ocorre a modulação dos efeitos vasoativos típicos dos fenômenos vasculares e celulares associados à inflamação (Sarasola *et al.*, 2021; Dvornikova *et al.*, 2023).

Assim como a histamina, a serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT), é uma molécula de fundamental importância para o organismo, desempenhando um papel dualístico, no qual atua como um dos principais neurotransmissores no sistema nervoso central (SNC) e, simultaneamente, como um mediador inflamatório relevante, com mecanismos de ação semelhantes aos dos receptores histamínicos (Ahangari *et al.*, 2025). De modo análogo à histamina, a serotonina desencadeia efeitos como a vasodilatação, mediada pela alteração das células musculares lisas e do endotélio, o que resulta na formação de edema devido ao extravasamento de componentes plasmáticos e celulares para o tecido alvo. Além disso, o 5-HT modula a liberação de mediadores inflamatórios ou anti-inflamatórios a depender do receptor específico com o qual interage por meio do mecanismo chave-fechadura (Saikia *et al.*, 2024).

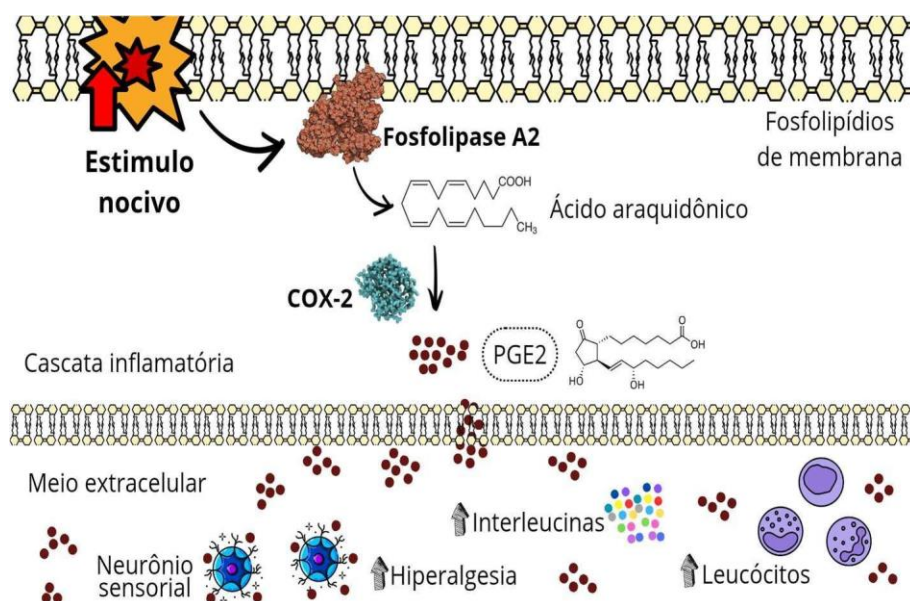
Receptores acoplados à proteína Gq, como por exemplo os subtipos 5-HT2A e

5-HT_{2B}, desencadeiam um processo de sinalização semelhante ao dos receptores histamínicos, a qual promovem a formação de segundos mensageiros, como o diacilglicerol (DAG) e o inositol trifosfato (IP₃) (Haq *et al.*, 2021; Ahangari *et al.*, 2025). Esses mensageiros promovem a liberação de cálcio (Ca²⁺) intracelular, essencial para a contração das células musculares lisas e para a ativação de enzimas dependentes de cálcio em células inflamatórias. Esse mecanismo é de extrema relevância para a transcrição de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , que desempenham um papel central na resposta inflamatória. (Grondin *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2024).

2.2.2 Eicosanoides derivados do ácido araquidônico

Outro grupo relevante de mediadores químicos envolvidos no processo inflamatório é composto por componentes lipídicos derivados do Ácido Araquidônico (AA), conhecidos como eicosanoides por apresentarem uma cadeia carbônica composta por vinte carbonos. Os eicosanoides são compostos por três principais grupos de biomoléculas: as prostaglandinas, os tromboxanos e os leucotrienos (Calder *et al.*, 2020). A síntese dos eicosanoides (figura 2) é iniciada mediante a detecção de PAMPs, DAMPs ou mediadores associados ao processo inflamatório. As citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , são o principal grupo de moléculas que estimulam a ativação da enzima Fosfolipase A₂ (FA₂) e Ciclooxygenase (COX) no citoplasma. Essas enzimas são responsáveis por catalisar a liberação do Ácido Araquidônico (AA) a partir dos fosfolipídios da membrana celular, dando início à cascata de produção dos eicosanoides. Uma vez liberado, o AA passa por um processo de oxidação mediado pela enzima ciclooxigenase até a formação das prostaglandinas (Christie *et al.*, 2020; Das *et al.*, 2023).

Figura 2: Cascata inflamatória mediada pelas enzimas (FA2) e COX-2, e efeitos da PGE2.



Legenda: Quando um estímulo nocivo está presente, a FA2 é ativada, iniciando a degradação dos fosfolipídios da membrana para formar ácido araquidônico. Em seguida, a enzima COX-2 catalisa a produção de prostaglandina E2 (PGE2). Finalmente, a PGE2 promove a síntese de citocinas inflamatórias, quimiotaxia de leucócitos e a sensibilização dos nociceptores.

Fonte: Perrone *et al.*, 2020, adaptado pelo autor.

Até o presente momento sabe-se da existência de duas isoformas da enzima COX ambas codificadas por genes diferentes. A COX-1, conhecida como enzima arrumadeira ou constitutiva por apresenta-se presente na maioria dos tecidos, a qual é responsável por funções fisiológicas normais, como proteção gástrica, modulação da função plaquetária e homeostase (Perrone *et al.*, 2020). Por outro lado, a COX-2 não é expressa de forma constitutiva na maioria dos tecidos, mas é rapidamente induzida em um ambiente inflamatório através da modulação promovida por mediadores como citocinas pró inflamatórias (Ahmadi *et al.*, 2022; Zarghi *et al.*, 2023).

As prostaglandinas são os principais eicosanoides responsáveis por mediar diversas funções no organismo, incluindo a atuação como importante mediador inflamatório. De modo semelhante aos receptores histamínicos e serotoninínicos, as atividades bioativas das prostaglandinas são mediadas por uma enorme quantidade de distintos receptores de membrana ancorados a proteína G, a qual pode modular a cascata de segundos mensageiros (Calder *et al.*, 2020; Wautier *et al.*, 2023).

A Prostaglandina E2 (PGE2) é o principal derivado do ácido araquidônico que é produzido em grandes quantidades em estado inflamatório. Esse mediador apresenta um papel fundamental na amplificação da resposta inflamatória, estando diretamente envolvida no surgimento dos sinais cardinais da inflamação, com destaque

a dor (Dos *et al.*, 2022). Em relação à dor, a PGE2 está diretamente envolvida na via da nocicepção juntamente com o TNF- α . Dessa forma, desempenhando um papel crucial no desenvolvimento da hiperalgesia ao aumentar a excitabilidade dos neurônios sensoriais (Barker *et al.*, 2022; Rani *et al.*, 2022).

2.2.3 Citocinas pró inflamatórias

As citocinas são a principal classe de mediadores diretamente envolvidos no processo da inflamação, em que a sua estrutura química é composta por proteínas de baixo peso molecular (Liu *et al.*, 2021). As citocinas constituem mediadores essenciais da resposta inflamatória, atuando por meio de uma complexa rede de comunicação do sistema imunológico tanto a nível local quanto sistêmico. O fato de serem relevantes moléculas ativas se dá no mecanismo de ação pleiotrópicos no organismo. As citocinas modulam de forma direta a diferenciação e especialização de linfócitos e células mieloides na resposta imune inata e adaptativa (Behrens *et al.*, 2024; Kureshi *et al.*, 2025). Dessa forma, essas moléculas desempenham o papel central em promover a polarização de subpopulações de células específicas em diferentes contextos patológicos, como a indução da resposta Th1 durante infecções bacterianas e virais e da via Th17 em condições como psoríase e infecções fúngicas (Catlett *et al.*, 2022; De Sanctis *et al.*, 2022; Behrens *et al.*, 2024).

Quanto à classificação, as citocinas podem ser categorizadas com base em dois critérios principais: sua estrutura química e suas funções biológicas. Do ponto de vista funcional, essas moléculas são comumente divididas em vários grupos sendo os principais os Fatores de Necrose Tumoral (TNFs) e Interleucinas (ILs) (Liu *et al.*, 2021). Além dessa classificação funcional, as citocinas também podem ser agrupadas conforme sua atividade imunológica em dois tipos opostos: pró-inflamatórias, que promovem a resposta inflamatória, e anti-inflamatórias, que atuam na modulação ou resolução do processo inflamatório (Liu *et al.*, 2021; Kureshi *et al.*, 2025).

No estágio inicial do processo inflamatório, moléculas sinalizadoras, como os PAMPs, DAMPs e mediadores inflamatórios, com destaque a prostaglandina E2, são reconhecidas por receptores específicos presentes na superfície de linfócitos e macrófagos. Esse reconhecimento desencadeia a ativação de cascatas de sinalização intracelular, culminando na transcrição de genes responsáveis pela produção de citocinas pró-inflamatórias (Zhang *et al.*, 2022; Kureshi *et al.*, 2025). O principal

mecanismo envolvido nesse processo é a via do Fator de Transcrição Nuclear Kappa B (NF- κ B), que regula centralmente a expressão desses mediadores inflamatórios. Dentre as citocinas pró-inflamatórias conhecidas, o TNF- α destaca-se pelo seu papel na regulação da resposta imune inata. Essa molécula é sintetizada por células de linhagem mieloide, principalmente por neutrófilos e macrófagos mediante a resposta contra patógenos, o qual possuem mecanismos de ação diferente para combater os agentes lesivos (De Sanctis *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022; Behrens *et al.*, 2024; Kureshi *et al.*, 2025).

Inicialmente descoberto em 1970, a super família de citocinas que compõem os TNFs são caracterizados por sua estrutura proteica trimétrica, as quais apresenta massa molecular de 50kDa (Ruiz *et al.*, 2021). Tanto o TNF- α quanto outros membros dessa família são capazes de induzir apoptose por meio da interação do Receptor 1 do Fator de Necrose Tumoral (TNFR1) com domínios de morte (*death domains*), resultando na ativação da caspase-8. Esse mecanismo desempenha um papel fundamental na resposta imunológica contra infecções causadas por microrganismos intracelulares, tais como *Mycobacterium tuberculosis*, HPV e *Leishmania spp*, além de atuar em processos neoplásicos. Adicionalmente, está envolvido na polarização dos linfócitos T CD4+ para a subpopulação de resposta Th1 (Ruiz *et al.*, 2021; Van Loo *et al.*, 2023; Yuk *et al.*, 2024).

O TNF- α é considerado a citocina central no processo inflamatório por sua capacidade de induzir a ativação de diversas vias, como a NF- κ B, modulando positivamente a síntese de citocinas pró-inflamatórias e de enzimas responsáveis por sintetizar outros mediadores inflamatórios, como a histamina, serotonina e PGE2, que amplificam a resposta inflamatória. Além disso, a ativação do TNFR1 pode causar diferentes respostas a depender do tipo celular. Como exemplo, a sinalização desse receptor promove a síntese de moléculas de adesão celular, como selectinas e ICAM-1 no endotélio ou a sensibilização dos canais iônicos presentes nos nociceptores. Dessa forma, o TNF- α é responsável por ampliar diretamente ou indiretamente os sinais cardinais da inflamação, com destaque para o edema e a dor pela interação com o TNFR1 (Chen *et al.*, 2020; De Magalhães *et al.*, 2021; Park *et al.*, 2023). Devido a este mecanismo, o TNF- α emerge como um dos principais mediadores químicos, altamente expresso em diversas patologias autoimunes e crônicas, como psoríase, artrite reumatoide e doença de Crohn. Diante desse cenário, a indústria farmacêutica

tem intensificado a pesquisa por novas terapias anti-TNF- α , destacando-se os análogos da talidomida que apresentam o radical ftalimida como as principais abordagens terapêuticas para tais condições clínicas (Evangelatos *et al.*, 2022; Majdi *et al.*, 2023).

2.3 Dor e hiperalgesia

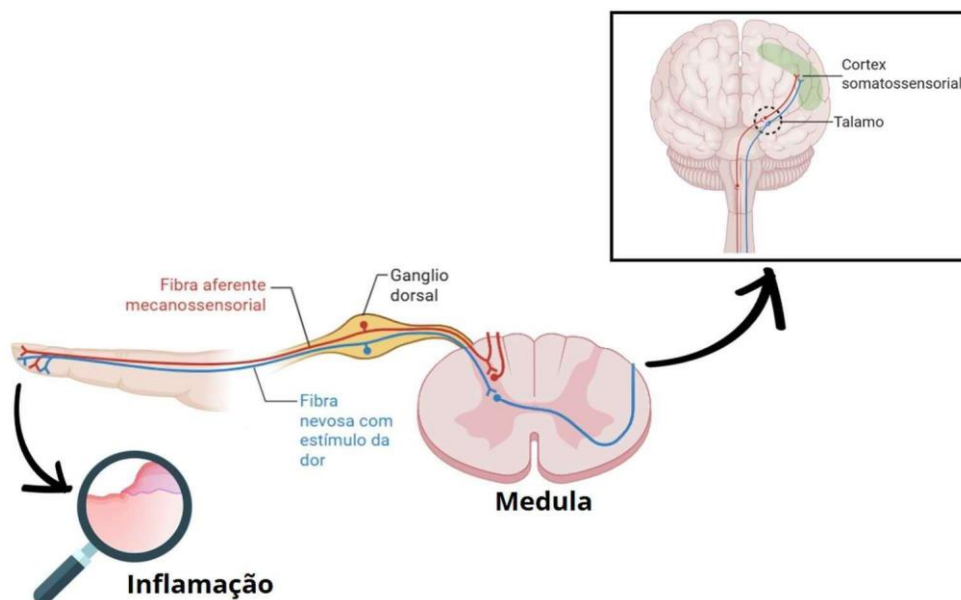
A dor é definida pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP, 2012) como uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada a um dano tecidual real ou potencial. Essa condição pode ser categorizada e classificada de acordo com critérios como gravidade, duração e origem (Finnerup *et al.*, 2020). Dentre os principais tipos de dor, destacam-se a dor neuropática, nociplástica e nociceptiva ou inflamatória. Os dois primeiros tipos de dor estão associados a alterações patológicas decorrentes de danos diretos às fibras nervosas ou à sensibilização do sistema nervoso central, respetivamente. Já a dor nociceptiva está principalmente relacionada a processos inflamatórios, sendo desencadeada pela ativação de nociceptores em resposta a estímulos lesivos (Afridi *et al.*, 2021; Atta *et al.*, 2023).

Para compreender como acontece o mecanismo nociceptivo, é fundamental analisar como ocorre a resposta fisiológica à dor. O mecanismo responsável pela detecção e resposta à dor é o sistema somatossensorial, que desempenha um papel essencial no processamento e decodificação de diversos estímulos sensitivos, como sinais mecânicos, térmicos e químicos (Wang *et al.*, 2022). Esse sistema atua como um canal sensorial especializado, captando informações provenientes da periferia do organismo e permitindo o armazenamento e o processamento de percepções tanto internas quanto externas. Dessa forma, o sistema nociceptivo ativo diversas regiões do cérebro e da medula, permitindo uma resposta rápida e eficiente a estímulos potencialmente nocivos (Wang *et al.*, 2022; Raju *et al.*, 2024).

O arco reflexo da dor é um mecanismo neural rápido e involuntário que atua como um sistema de defesa do organismo contra estímulos potencialmente nocivos. Esse processo inicia-se com a ativação dos nociceptores, receptores especializados na detecção de estímulos lesivos, que transmitem o sinal doloroso através de fibras nervosas aferentes (fibras A-delta e C) até a medula espinhal (Figura 3) (Carneiro *et al.*, 2023; Mears *et al.*, 2023). Na medula, o sinal é processado por interneurônios, que ativam neurônios motores eferentes, desencadeando uma resposta motora imediata,

como a retirada do membro afetado. Paralelamente, o sinal é enviado ao cérebro para o processamento consciente da dor. Esse mecanismo reflexo é essencial para a proteção do organismo, pois permite uma resposta rápida e eficiente, minimizando danos teciduais e mantendo a homeostase (Wang *et al.*, 2022; Carneiro *et al.*, 2023).

Figura 3: Diagrama ilustrativo do arco reflexo da dor.

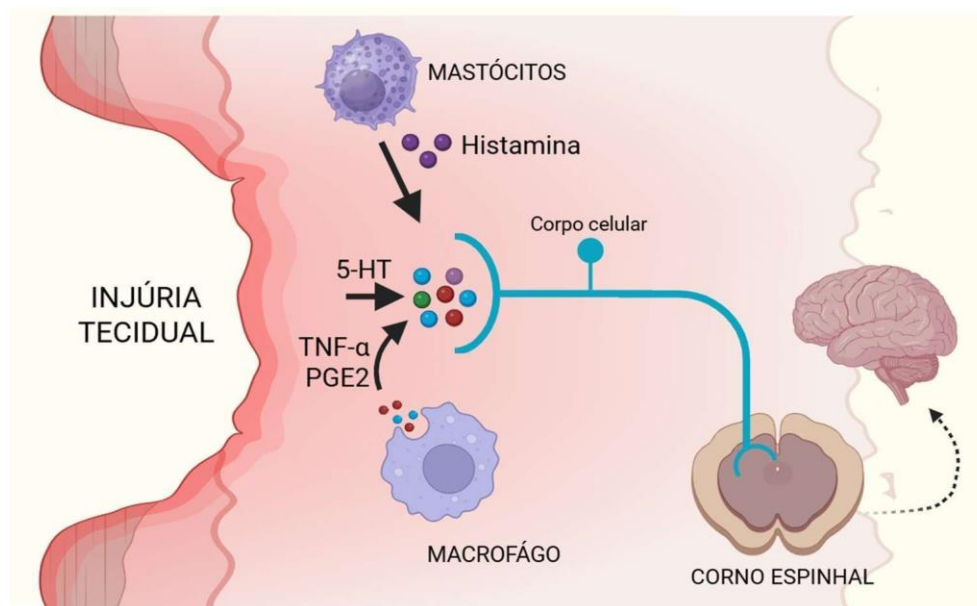


Legenda: Inicialmente, alguns estímulos, como o calor e a dor promovem a transmissão rápida para a medula espinhal, o qual é rapidamente decodificada e é mandada uma resposta motora imediata. Posteriormente o potencial nocivo é transmitido e decodificado no sistema somatossensorial.

Fonte: Autoria própria.

Durante um processo inflamatório, diversos mediadores químicos, como prostaglandinas, aminas vasoativas e TNF- α são sintetizados e atuam promovendo a sensibilização dos neurônios sensoriais especializados na detecção de estímulos dolorosos, conhecidos como nociceptores (Figura 4) (Afridi *et al.*, 2021). Esse fenômeno ocorre por meio da redução do limiar de despolarização das fibras nervosas aferentes, o que facilita a transmissão dos impulsos nociceptivos para o SNC (Schumacher *et al.*, 2024). De Magalhães e colaboradores 2021 descobriram em seu estudo que o TNF- α possui a capacidade de induzir a hiperalgesia através de dois processos diferentes. O primeiro é caracterizado pela transdução do sinal da citocina pró-inflamatória ao receptor TNFR1. Esse mecanismo promove a sensibilização de canais iônicos dos nociceptores permitindo, assim, o influxo de íons para o citoplasma dos neurônios (De Magalhães *et al.*, 2021; Barker *et al.*, 2022).

Figura 4: Representação esquemática da hiperalgesia mediada por nociceptores em um foco inflamatório.



Legenda: Células inflamatórias, como mastócitos e macrófagos, acabam liberando mediadores químicos que podem provocar a hipersensibilização dos nociceptores e a transmissão exacerbada do estímulo de dor para o SNC.

Fonte: Autoria própria.

O segundo ponto chave é o aumento da expressão de outros mediadores responsáveis pela sensibilização dos neurônios sensoriais com destaque a prostaglandina-E2 (De Magalhães *et al.*, 2021). Dessa forma, tais mediadores induzem o quadro de hiperalgesia através do influxo de íons provocado pela sensibilização dos canais iônicos. Com isso ocorre a redução do limiar de despolarização, o que significa que os nociceptores se tornam mais sensíveis e são capazes de gerar potenciais de ação em resposta a estímulos menos dolorosos e transmiti-lo por vias aferentes para o SNC (Dos *et al.*, 2022; Rani *et al.*, 2022). Assim, essas fibras passam a responder de maneira exacerbada não apenas aos estímulos diretos causados pelo agente lesivo, mas também aos estímulos indiretos decorrentes do processo inflamatório levando assim a um quadro de hiperalgesia local (Mamede *et al.*, 2020). Dentre esses estímulos indiretos, destaca-se a lise de células saudáveis, que pode ser induzida pela ação inespecífica de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) geradas durante a inflamação (Jiang *et al.*, 2023; Schumacher *et al.*, 2024).

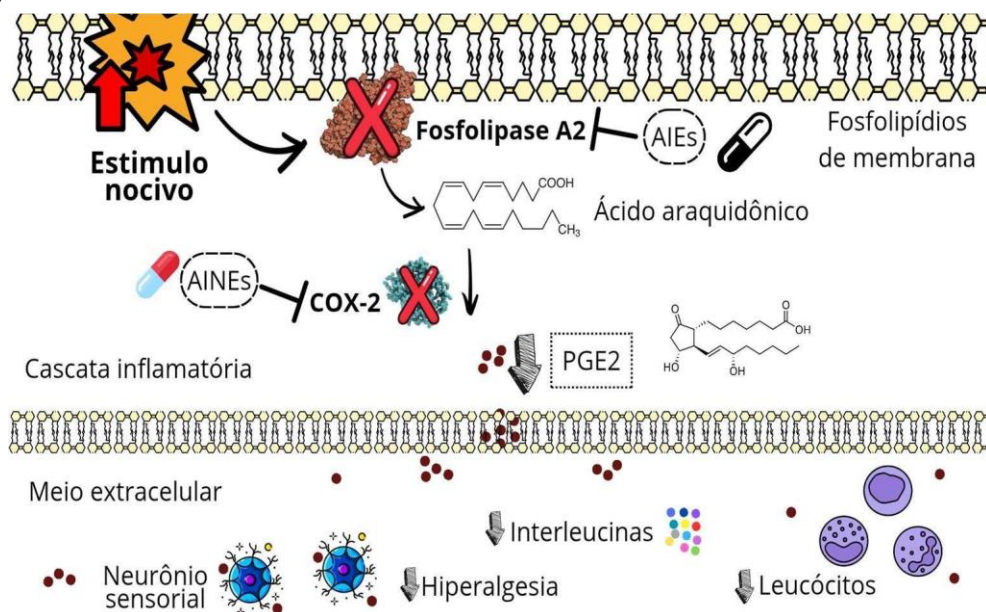
2.4 Principais classes de fármacos anti-inflamatórios e analgésicos

A humanidade, desde os tempos antigos, utiliza ervas e medicamentos à base de plantas medicinais para o tratamento de inflamações e dos principais sinais clínicos

em diversas condições de saúde, como na dor reumática, conforme descrito no Papiro de Ebers, documentado por volta de 1550 a.C. Desde o descobrimento do ácido acetilsalicílico em 1879, os fármacos anti-inflamatórios são uma dos principais grupos de medicamentos prescritos na atualidade e a tendência é aumentar conforme o envelhecimento da população mundial (Panchal *et al.*, 2023; Zarghi *et al.*, 2023).

Atualmente, o mercado farmacêutico dispõe de um extenso arsenal de fármacos, resultado dos avanços científicos e médicos obtidos ao longo do último século. Esses medicamentos têm como objetivo principal combater os sinais cardinais da inflamação (Saikia *et al.*, 2024). Tal processo é alcançado por meio da modulação negativa de mediadores associados à resposta inflamatória. Os principais fármacos envolvidos nesse mecanismo pertencem às classes dos Anti-inflamatórios Esteroidais (AIEs) e dos Anti-inflamatórios Não Esteroidais (AINEs) (Sousa *et al.*, 2024; Khan *et al.*, 2024). Esses medicamentos atuam, respectivamente, sobre duas enzimas essenciais na síntese de eicosanoides pró-inflamatórios; a Fosfolipase A2 (PLA2) e a Ciclooxigenase (COX). A COX, por sua vez, apresenta duas isoformas principais, COX-1 e COX-2, que desempenham papéis distintos no processo inflamatório (Figura V) (Ahmadi *et al.*, 2022; Das *et al.*, 2023; Panchal *et al.*, 2023).

Figura 5: Mecanismo de ação dos Anti-inflamatórios Esteroidais (AIEs) e Não Esteroidais (AINEs).



Legenda: As classes de fármacos AIEs e AINEs possuem mecanismo de ação de inibir enzimas chaves na síntese de eicosanoides derivados do ácido araquidônico.

Fonte: Perrone *et al.*, 2020, adaptado pelo autor.

Entretanto, tais terapias anti-inflamatórias e antinociceptivas estão associadas a efeitos colaterais e até mesmo tóxicos em pacientes que as utilizam de forma crônica. Por exemplo, os AIEs podem causar potente imunossupressão e distúrbios endócrinos, enquanto os AINEs estão relacionados a toxicidade hepática, cardiovascular e gastrointestinal, decorrente da síntese de metabólitos tóxicos, como observado no caso da nimesulida (Sheikholeslami *et al.*, 2020; Baldo *et al.*, 2021). Diante desses desafios, torna-se evidente a necessidade de a indústria farmacêutica investir na descoberta ou na modificação da estrutura molecular de fármacos capazes de promover a redução do processo inflamatório e, conseqüentemente, amenizar a hipersensibilização de nociceptores. Nesse contexto, há um esforço crescente no desenvolvimento de novas moléculas com propriedades anti-inflamatórias e analgésicas mais eficazes e com menor potencial de efeitos adversos e tóxicos (Viana *et al.*, 2022; Jung *et al.*, 2023).

2.5 Química medicinal, conceito e inovações

A química medicinal surgiu a partir de descobertas no último século como um ramo interdisciplinar, na qual sua principal finalidade consiste na descoberta de novas estruturas químicas, a partir de estudos que investigam reações sintéticas entre fármacos já estabelecidos e comercializados no mercado com biomoléculas presentes na natureza (Chaganti *et al.*, 2024; Daviaud *et al.*, 2025). Dessa forma, um dos principais enfoques da indústria farmacêutica na atualidade é no aperfeiçoamento de fármacos já existentes através de rearranjos nas estruturas moleculares ao ponto de criar novos compostos descritos como semissintéticos, com a finalidade de minimizar os efeitos adversos e tóxicos de tais medicações e potencializar a ação farmacológica (Veale *et al.*, 2021; Chaganti *et al.*, 2024; Daviaud *et al.*, 2025).

Atualmente, por meio das metodologias propostas pela química medicinal, a indústria farmacêutica tem alcançado uma ampla gama de descobertas relacionadas a novos fármacos para o tratamento de diversas patologias clínicas, como doenças autoimunes, infecciosas, câncer e neurodegenerativas (Gütschow *et al.*, 2020; Daviaud *et al.*, 2025). A tendência é que esse avanço se intensifique ainda mais com a incorporação de tecnologias emergentes, como a Inteligência Artificial (IA), que vem sendo utilizada para desempenhar atividades estratégicas, tais como a predição de

propriedades farmacológicas e a otimização de moléculas com potencial terapêutico, bem como a retrosíntese e eficiência na produção de tais moléculas. (Gholap *et al.*, 2024).

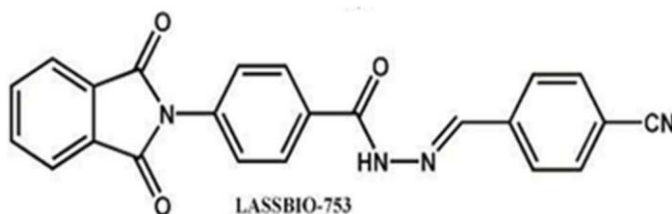
No âmbito da química medicinal voltada para a criação de compostos semissintéticos com possíveis efeitos anti-inflamatórios e anti nociceptivos, tem-se cada vez mais analisado a combinação de fármacos já conhecidos com atividade de inibir os principais mediadores químicos chaves no processo inflamatório, com moléculas que atuam sinergicamente (Viana *et al.*, 2022). Dentre as principais moléculas selecionadas para a síntese de biomoléculas semissintéticas anti-inflamatórias e analgésicos, destacam-se principalmente os inibidores de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , junto com compostos naturais com propriedades de inibir a ação da enzima COX-2 (Jung *et al.*, 2023; Daviaud *et al.*, 2025). Dessa forma, desenvolver uma nova molécula teoricamente capaz de possuir o efeito combinado dos dois compostos com a finalidade de potencializar o efeito clínico, e ao mesmo tempo possuir menos efeitos colaterais e tóxicos para o organismo (Gholap *et al.*, 2024).

2.6 LASSBio-753, semissintético derivado da talidomida e da N-acilhidrazona

Tendo em vista os principais objetivos da química medicinal, o Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio) situado na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), desenvolveu o LASSBio-753, um novo composto semissintético obtido por hibridação molecular entre os protótipos da talidomida e o N-acilhidrazônico, um inibidor da enzima ciclooxigenase. Dessa forma, o composto semissintético LASSBio-753 (Figura VI) apresenta em sua estrutura química o radical ftalimidico isoindol-1,3-diona, derivado da talidomida, conjugado com a molécula de N-acilhidrazona. Ademais, o mesmo foi obtido com rendimento satisfatório e caracterizado utilizando ressonância magnética nuclear de hidrogênio, carbono e infravermelho. Sua fórmula química no sistema Hill é C₂₃H₁₄N₄O₃ e possui massa molar de 381,2790 g/mol, formada por 3 anéis aromáticos, um grupamento amina, um anel pentano ligado a duas cetonas (Nascimento *et al.*, 2019). Para compreender os possíveis efeitos farmacológicos do composto semissintético em estudo, é fundamental analisar seus análogos estruturais, destacando-se a talidomida e o ácido N-acilhidrazônico, com a finalidade de investigar insights valiosos sobre as propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas do composto, além de auxiliar na

identificação de potenciais aplicações terapêuticas ou efeitos adversos.

Figura 6: Estrutura química do LASSBio-753.



Legenda: A molécula do LASSBio é composta por um radical ftalimida derivado da talidomida combinado com uma cadeia carbônica aromática com presença de um grupamento N-acilhidrazona.

Fonte: Nascimento *et al.*, 2019.

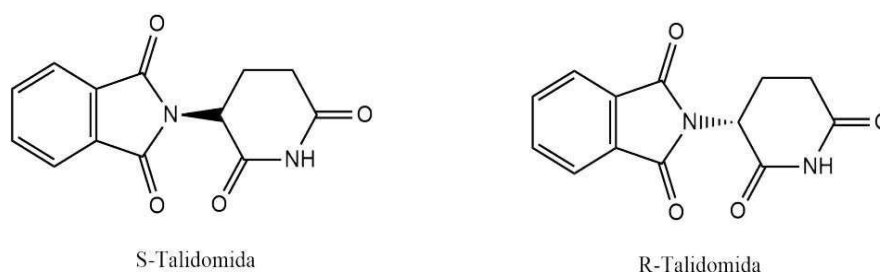
A talidomida é um fármaco sintético, originalmente desenvolvido como anti-inflamatório, analgésico e antiemético, derivado do composto α -ftalimido-glutaramida. O medicamento foi amplamente comercializado no final da década de cinquenta quando foi retirado do mercado em 1961, por suposta associação do fármaco a uma epidemia de malformações congênitas em recém-nascidos (Vargesson *et al.*, 2021).

Estudos recentes sobre a talidomida revelaram dois aspectos fundamentais. Primeiramente, a talidomida e seus análogos pertencem à classe de fármacos imunomoduladores (IMiDs), atuando principalmente por meio da inibição da expressão de diversas citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α em monócitos. Tais estudos sugerem que a talidomida atua de forma direta na via de modulação intracelular denominada de Sistema Ubiquitina-Proteassoma (SUP), a qual é um complexo mecanismo celular responsável pela degradação de proteínas danificadas ou desnecessárias. Dessa forma, esse sistema é crucial para a regulação de diversos processos celulares incluindo a modulação negativa da sinalização celular de fatores de transcrição de genes de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α (Gao *et al.*, 2020; Oleinikovas *et al.*, 2024).

Em segundo lugar, a talidomida é uma molécula que apresenta isomeria óptica por apresentar um carbono quiral na sua estrutura molecular no carbono 3 da extremidade glutamina (Figura 7) (Vargesson *et al.*, 2021). A literatura demonstra que enquanto o enantiômero R ou (+) é responsável por efeitos terapêuticos, o S (-) causa um efeito deletério, levando a malformações congênitas. Estudos indicam que o enantiômero S da talidomida apresenta maior afinidade de ligação à proteína cereblon (CRBN), uma E3 ubiquitina ligase que desempenha um papel crucial no sistema

ubiquitina-proteassoma (SUP). A CRBN é responsável por marcar proteínas-alvo com ubiquitina, sinalizando-as para degradação pelo proteassoma (Figura 8). A interação do enantiômero S com a cereblon e a proteína alvo resulta na hiperativação do SUP, promovendo a degradação de proteínas essenciais para o desenvolvimento embrionário. Esse mecanismo está diretamente associado aos efeitos teratogênicos da talidomida, levando a malformações congênitas, como a focomelia, quando administrada durante a gestação (Yamanaka *et al.*, 2021; Lecca *et al.*, 2023; Oleinikovas *et al.*, 2024).

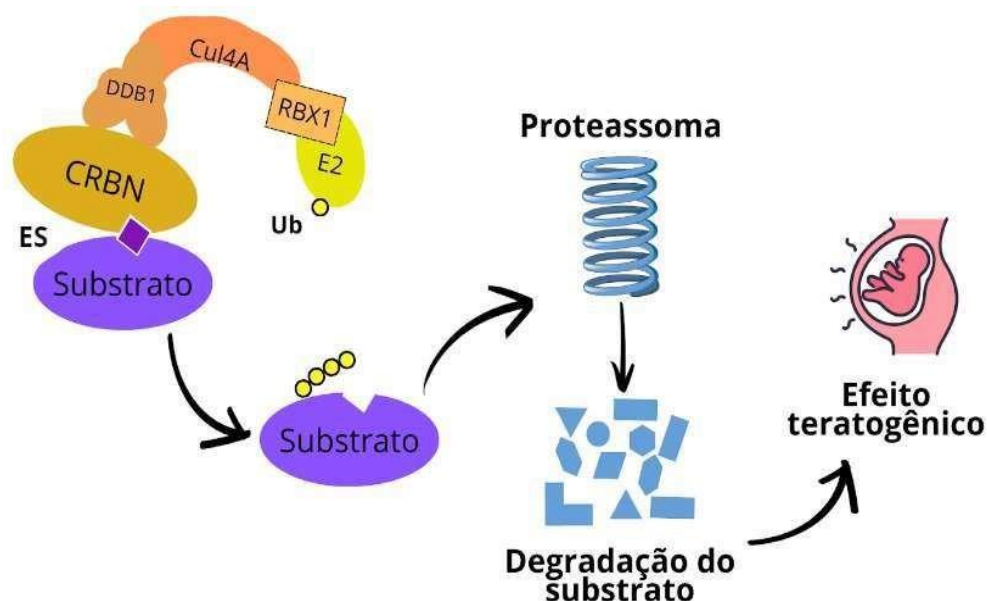
Figura 7: Estrutura química dos enantiômeros ópticos da talidomida.



Legenda: Enantiômeros ópticos da talidomida. Note a presença da isomeria óptica associada a um carbono quiral presente no anel glutaramida ligado ao radical ftalimida.

Fonte: Yamanaka *et al.*, 2021, adaptado pelo autor.

Figura 8: Mecanismo de teratogenicidade da talidomida.



Legenda: Representação esquemática do mecanismo teratogenicidade da talidomida. Note que a talidomida atua como uma “molécula cola” Interligando o complexo SUP ao substrato. A hiperativação do SUP promovido pelo Enantiômero S (ES) da talidomida promove a ubiquitinação e degradação de

proteínas fundamentais para o desenvolvimento do feto.

Fonte: Gao *et al.*, 2020, adaptado pelo autor.

Outro componente que constitui o LASSBio-753 são as N-acilhidrazonas (NAHs), um grupo de compostos químicos caracterizados pela fórmula geral $R^1\text{-CO-NH-N=CH-R}^2$, em que R^1 representa um grupo acila e R^2 corresponde a qualquer grupo orgânico. Devido à sua elevada versatilidade estrutural e estabilidade molecular, as NAHs destacam-se como um dos principais grupos de compostos investigados na química medicinal contemporânea. Sua estrutura modular permite o desenvolvimento de uma ampla variedade de derivados com potenciais aplicações terapêuticas em diversas fisiopatologias. Dentre as propriedades farmacológicas associadas às NAHs, destacam-se atividades anticancerígenas, antimicrobianas, anti-inflamatórias e analgésicas, o que as torna esqueletos moleculares promissores para o design de novos fármacos. (Mikus *et al.*, 2023; Fernandes *et al.*, 2023; Kassab *et al.*, 2024).

Além disso, os grupamentos acila e hidrazona, que compõem as N-acilhidrazonas (NAHs), possuem a capacidade de estabelecer interações moleculares específicas com aminoácidos presentes em proteínas-alvo, como a enzima ciclo-oxigenase-2 (COX-2). Essas interações ocorrem por meio de ligações de hidrogênio, forças hidrofóbicas e outras interações não covalentes, que permitem que as NAHs se liguem de forma eficiente ao sítio ativo da enzima. Como resultado, alguns derivados das N-acilhidrazonas demonstram propriedades inibitórias sobre a COX-2, atuando como antagonistas da produção de eicosanoides, moléculas sinalizadoras envolvidas na modulação de vias inflamatórias e na indução de hiperalgesia (Medeiros *et al.*, 2021; Mikus *et al.*, 2023).

Nesse contexto, o composto semissintético LASSBio-753, derivado da associação de protótipos da talidomida com moléculas de N-acilhidrazonas inibidoras da enzima COX, foi planejado com o intuito de substituir o carbono quiral presente no anel glutaramida da talidomida, responsável por seus efeitos teratogênicos (Nascimento *et al.*, 2019). Dessa forma, o presente estudo experimental tem como objetivo avaliar as propriedades anti-inflamatórias e antinociceptivas do composto LASSBio-753 em modelos de inflamação aguda.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o possível efeito anti-inflamatório e analgésico do composto ftalimídico semissintético LASSBio-753 em modelos de inflamação aguda.

3.2 Objetivos específicos

- Verificar o efeito anti-inflamatório do LASSBio-753 em edema de pata induzido por carragenina em camundongos;
- Averiguar efeito anti-inflamatório do LASSBio-753 em edema de pata induzido pelos mediadores vasoativos histamina e serotonina em camundongos;
- Analisar o efeito do LASSBio-753 em reduzir os níveis da citocina pró-inflamatória TNF- α em modelo de peritonite em camundongos;
- Avaliar o efeito analgésico do LASSBio-753 a partir da análise do teste de contorção por ácido acético.

4. METODOLOGIA

4.1 Animais utilizados para os protocolos experimentais e questões éticas

Neste estudo foram usados camundongos Swiss fêmeas (20-30g) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Para cada experimento foi utilizado um número de seis animais por grupo (n=6). Os animais foram mantidos em caixas contendo xilana + maravalha estéril na proporção 3:1, em ambiente com temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e ciclo claro/escuro (12/12h) controlado. Além disso, até o momento da realização dos experimentos os animais permanecerão com ração apropriada e água *ad libitum*.

Todos os tratamentos e procedimentos realizados foram de acordo com o Guia de Cuidado em Uso de Animais do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Além disso, no presente projeto a eutanásia foi realizada com base nos princípios e normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) de acordo com a resolução normativa nº 37 de 15.02.2018. A eutanásia dos animais foi realizada com uma dose letal de anestésicos combinados de Quetamina (240 mg/kg) e Xilazina 30 mg/kg (Guazelli *et al.*, 2013). Ademais, o presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animal (CEUA) da Universidade Federal do Delta do Parnaíba, sob o protocolo no 008/2020 (anexo 1).

4.2 Delineamento experimental

Para cada experimento de avaliação anti-inflamatória e analgésica, foram constituídos os seguintes grupos de acordo com a figura 9:

Figura 9: Grupos experimentais.



Legenda: Esquematização com os grupos experimentais utilizados nos ensaios.

Fonte: Autoria própria.

O primeiro grupo é o salina, que pertence aos animais que foram induzidos o edema apenas com solução fisiológica à 0,9%. O grupo é seguinte o controle positivo ou controle da indução da inflamação. Previamente, os animais foram tratados com solução de dimetilsulfóxido à 4% (DMSO 4% v/v) via intraperitoneal (i.p). Posteriormente, em cada experimento foi induzido a inflamação pela administração de algum agente flogístico específico (carragenina, histamina, serotonina ou ácido acético). O grupo subsequente pertence ao fármaco a ser testado LASSBio-753, que são animais que receberam o composto semissintético em análise nas doses de 0,1; 1 e 10mg/kg e posteriormente foi induzido a inflamação com o agente inflamatório. Por fim o grupo fármaco padrão, onde os animais foram previamente tratados fármacos anti-inflamatório ou analgésico de referência no mercado, sendo a indometacina e morfina respectivamente.

4.3 Ensaios experimentais utilizados para a avaliação do potencial anti-inflamatório e analgésico

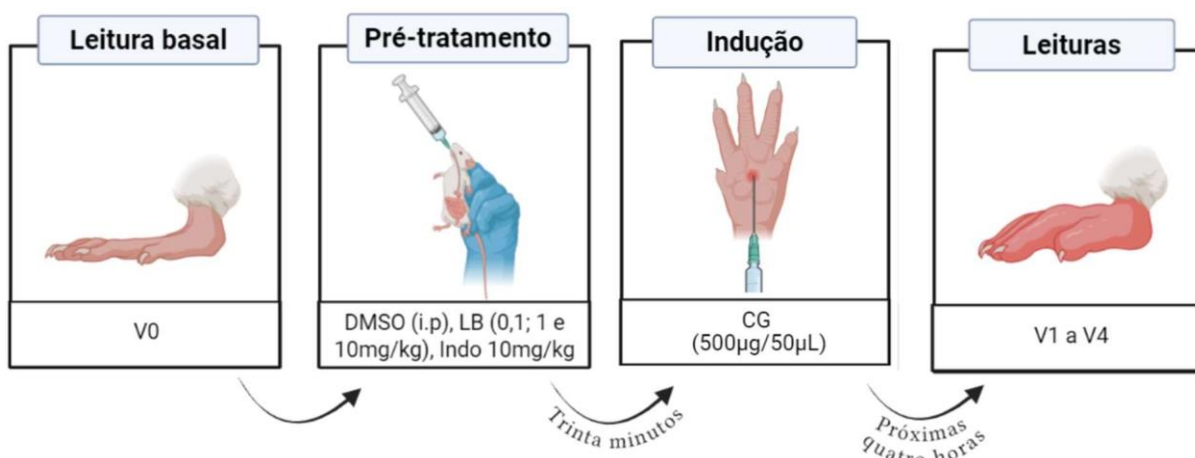
4.3.1 Edema de pata induzido por carragenina

Antes da indução do edema, os animais foram pré-tratados com DMSO à 4% i.p, ou com LASSBio-753 ou indometacina 10mg/kg (Figura 10). Após 30 minutos, o edema foi induzido pela injeção intraplantar (i.pl.) de 50µL de uma suspensão de carragenina (500µg/pata) em solução salina estéril 0,9% na pata direita traseira dos camundongos. Os grupos controle negativo receberam apenas 50µL de solução salina na pata. O volume da pata foi mensurado por meio de pletismometria (Panlab LE75000), sendo as leituras realizadas antes do experimento (volume basal, Vo) e em 1, 2, 3 e 4 horas após a indução com carragenina (Vt) usando pletismômetro (Winter

et al., 1962). O efeito do pré-tratamento foi calculado como porcentagem de inibição do edema relativa ao volume da pata do grupo controle positivo (CP) e grupo de tratamento (GT) (Lanhers *et al.*, 1991), usando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Inibição do edema} = \frac{(V_t - V_o)_{CP} - (V_t - V_o)_{GT}}{100(V_t - V_o)_{CP}}$$

Figura 10: Esquematisação do ensaio edema de pata induzido por carragenina.



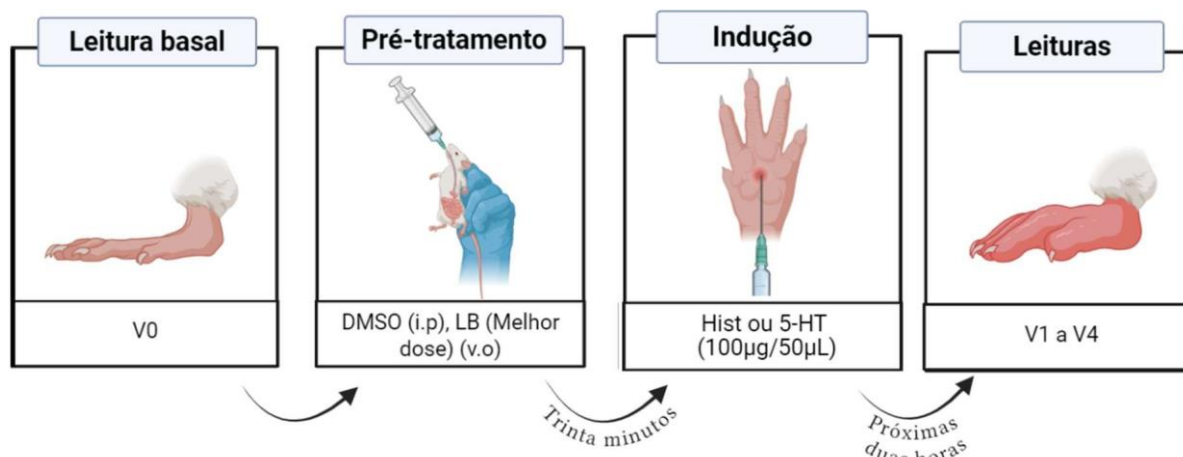
Legenda: Inicialmente, foi realizado a leitura basal da pata dos camundongos. Posteriormente, os animais foram pré-tratados com DMSO 4% (i.p) ou doses do LASSBio (LB 0,1; 1 e 10mg/kg) (v.o) ou indometacina 10mg/kg (v.o). Após trinta minutos, induz-se o edema de pata utilizando carragenina (CG) como agente inflamatório, e a leitura foi realizada de hora em hora até a quarta hora.

Fonte: Autoria própria.

4.3.2 Edema de pata induzida por mediadores

Foi utilizada a melhor dose observada no experimento de edema de pata induzido por carragenina do composto LASSBio-753 para a realização do edema de pata induzido pelos mediadores vasoativos histamina e serotonina (Figura 11). Os animais inicialmente foram tratados com a melhor dose do LASSBio-753. Posteriormente, 30 minutos após o tratamento foi administrado 50µl de serotonina (5-HT; 100 µg/pata) ou histamina (HIST; 100 µg/pata) na pata traseira direita dos animais. Os grupos controles positivos receberam apenas os mediadores vasoativos na pata, e grupo negativo recebeu 50µl de solução salina (0,9%). Foi aferido o volume do tempo zero, antes da indução/tratamento dos grupos. Após a aplicação do mediador na pata foi aferido o volume da pata dos animais nos tempos de 30, 60, 90 e 120 min.

Figura 11: Esquemática do ensaio edema de pata induzido mediadores vasoativos.



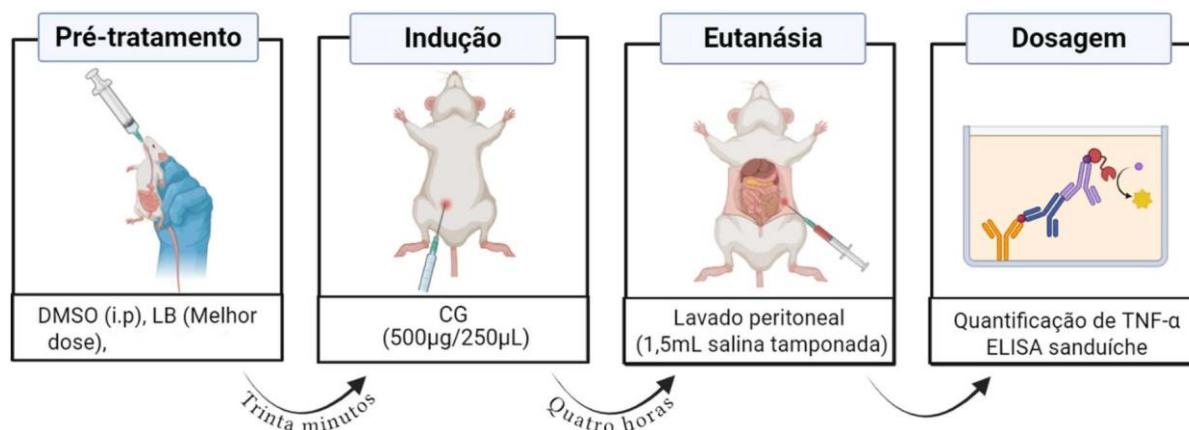
Legenda: Inicialmente, foi realizada a leitura basal da pata dos camundongos. Posteriormente, os animais foram pré-tratados com DMSO (i.p.) ou melhor dose do LASSBio (v.o.). Após trinta minutos, induziu-se o edema de pata utilizando os mediadores vasoativos histamina (Hist) ou serotonina (5-HT) como agente inflamatório, e a leitura da pata foi feita de hora em hora até a quarta hora.

Fonte: Autoria própria.

4.3.3 Dosagem de $TNF-\alpha$ do lavado peritoneal induzido por carragenina

Para a quantificação de $TNF-\alpha$ (Figura 12) presente no lavado peritoneal dos camundongos foram previamente tratados com DMSO (i.p.) ou via oral com indometacina 10mg/kg ou com a melhor dose do LASSBio-753. Em seguida, depois de trinta minutos da fase de pré-tratamento, os animais receberam carragenina via i.p. (250µl / 500 µg/cavidade) ou solução salina. Posteriormente foi realizada a eutanásia quatro horas após a aplicação do agente inflamógeno e a cavidade peritoneal foi lavada com 1,5ml de solução salina tamponada conforme a metodologia modificada de Chaves *et al.*, (2013). Em sequência foi realizado o imunoensaio de ELISA sanduíche com anticorpos biotinados para quantificar precisamente a concentração de $TNF-\alpha$, conforme as instruções do kit comercial DuoSet-DY501, R&D Systems, Inc., Abingdon, UK.

Figura 12: Esquemática do ensaio peritonite induzida por carragenina.



Legenda: Inicialmente os animais foram pré-tratados com DMSO (i.p.) ou melhor dose do LASSBio (LB) (v.o.). Após trinta minutos, induziu-se a peritonite utilizando o agente inflamatório carragenina (CG) (i.p.). Após quatro horas os animais foram eutanasiados e feito o lavado peritoneal com solução salina tamponada. Posteriormente, foi feita a quantificação da concentração de TNF- α utilizando o imunoensaio ELISA sanduíche.

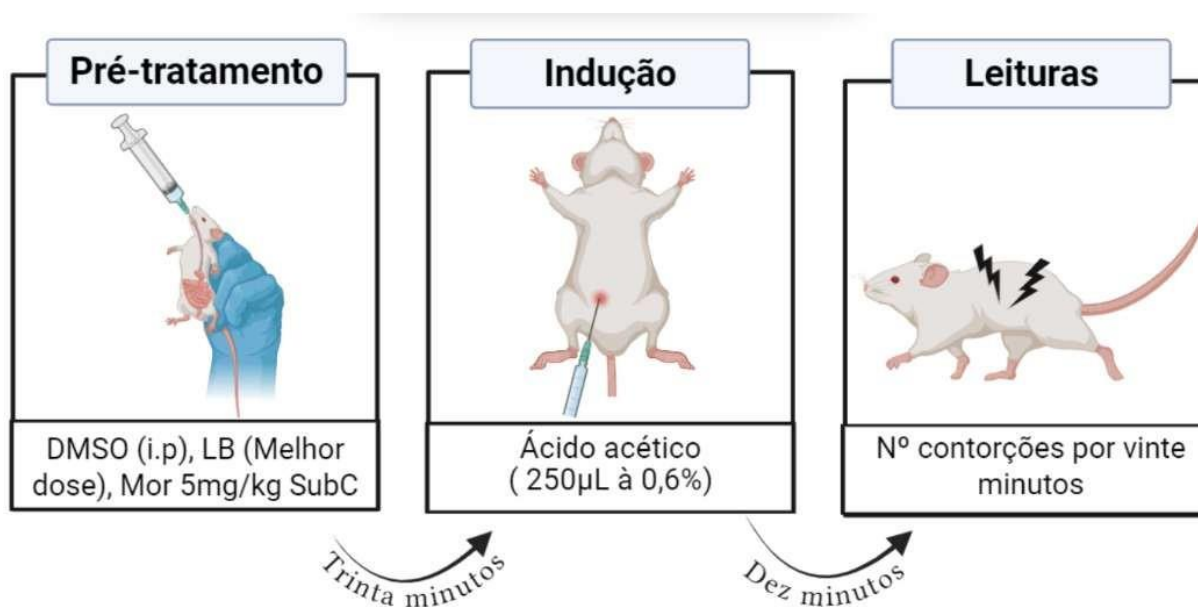
Fonte: Autoria própria.

A amostra de exsudato peritoneal foi homogeneizada com solução tampão inibidora de proteases para cada 100 mL de líquido. Posteriormente, a amostra foi homogeneizada e centrifugada a 3000 RPM por dez minutos a 4°C. Em seguida o sobrenadante foi coletado e incubado com 2 µg/ml de anticorpo de captura diluído em tampão bicarbonato (pH 8,2) sendo 100 µl em cada poço durante a noite a 4 °C. Posteriormente os poços foram lavados com PBS-0,1%+ Tween 20. A reação foi bloqueada com 1% de albumina bovina, 100 µl por poço, por 2 h a temperatura ambiente. Os poços foram então lavados e a curva padrão foi traçada para a citocina TNF- α diluída em tampão de lavagem. A placa foi lavada novamente e incubada com anticorpo biotilado diluído (1:1000 diluído em tampão lavagem) por 1 hora novamente a temperatura ambiente. A placa foi lavada novamente e então incubada com avidina peroxidase (1:5000, Sigma Aldrich-A7419), 100 µl por poço, por quinze minutos em temperatura ambiente. A placa foi então lavada e incubada com Dicloridrato de O-Fenilenodiamina (OPD), 100 µl por poço, a 24 ± 2 °C, por um período de 5 minutos. A reação foi interrompida com o aparecimento da cor com a adição de 150 µl de H₂SO₄ 1 M em cada poço e a absorbância foi mensurada no espectro de 450 nm e os níveis da citocina foram medidos usando o método descrito por Dias *et al.*, 2014. Os resultados então foram expressos como média ± EPM da concentração de TNF- α em picogramas por mililitro de líquido peritoneal (pg/ml).

4.3.4 Teste de contorção abdominal induzida por ácido acético

Para a indução de hipernocicepção periférica através da peritonite induzida por ácido acético (Figura 13) os animais foram tratados com DMSO 4% (i.p) ou subcutânea com morfina 5mg/kg ou via oral com LASSBio-753 na melhor dose. Após 30 minutos, foi injetado via intraperitoneal, em cada animal 250 µL de solução de ácido acético 0,6% ou com solução salina (controle negativo) e posteriormente os animais foram colocados individualmente em funis de vidro, com um espelho ao fundo (80°) para permitir a visualização completa do seu comportamento. Após 10 minutos da indução com ácido acético, as contorções abdominais foram contabilizadas durante os 20 minutos subsequentes, no qual foram consideradas como contrações da parede abdominal seguidas de extensão de pelo menos uma das patas posteriores como descrito por Koster *et al.*, 1957 e SOUSA *et al*, 2024. Os resultados foram expressos de acordo com as Médias \pm Erro Padrão da Média (EPM) do número de contorções abdominais acumuladas durante 20 minutos da avaliação experimental.

Figura 13: Esquematização do ensaio contorção induzida por ácido acético.



Legenda: Inicialmente os animais foram pré-tratados com DMSO (i.p.) ou melhor dose do LASSBio (LB) (v.o.) ou por morfina subcutânea (Mor 5mg/kg). Após trinta minutos, induziu-se a contorção abdominal utilizando o agente inflamatório ácido acético (i.p). Após dez minutos foram contabilizados o número de contorções do abdômem pelos próximos vinte minutos.

Fonte: Autoria própria.

4.4 Análise estatística

De todos os experimentos foram calculadas as médias \pm EPM de certo número

de eventos (n) em cada grupo. Para os dados paramétricos a diferença estatística entre os grupos foi determinada através de análise de variância (ANOVA) com pós-teste Newman-Keuls. Uma diferença de $p < 0,05$ foi considerada estatisticamente significativa.

5. RESULTADOS

5.1 Atividade do LASSBio-753 no edema de pata induzido por carragenina

De acordo com a tabela 1 é notável o aumento de forma significativo do volume da pata após a aplicação intraplantar de carragenina nos intervalos de tempo determinados (3h= $0,078 \pm 0,003$ ml; 4h= $0,081 \pm 0,004$ ml) em comparação ao grupo salina (3h= $0,008 \pm 0,002$ ml; 0,004 $\pm 0,001$ ml), comprovando a eficiência do agente inflamatório. Ademais, o outro ponto a ser observado é em relação a dose de 10 mg/kg do LASSBio-753 (3h= $0,028 \pm 0,002$; 4h= $0,023 \pm 0,002$) que se mostrou a mais eficaz dentre as demais (LASSBIO 0,1 mg/kg 3h= $0,067 \pm 0,002$ ml, 4h= $0,065 \pm 0,004$ ml e LASSBIO 1,0 mg/kg 3h= $0,058 \pm 0,003$; 4h= $0,056 \pm 0,003$ ml) em comparação ao grupo carragenina. Outro ponto a ser observado é que o LASSBio-733 apresentou redução significativamente maior em relação ao fármaco de referência, indometacina (3h= $0,045 \pm 0,011$ ml; 4h= $0,038 \pm 0,002$ ml), assim demonstrando o potencial anti-inflamatório do composto semissintético no edema de pata induzido por carragenina. Dessa forma, a dose de 10 mg/kg por apresentar um melhor efeito na redução da inflamação aguda, foi escolhida para os demais em ensaios de inflamação.

Tabela 1: Atividade Anti-inflamatória do LASSBio-753 sobre o edema de carragenina.

Tratamento mg/kg	Volume da pata em ml (tempo após a administração de carragenina)			
	1h	2h	3h	4h
Sal	$0,018 \pm 0,002$	$0,011 \pm 0,003$	$0,008 \pm 0,002$	$0,004 \pm 0,001$
Carragenina + DMSO 4%	$0,056 \pm 0,004^{\#}$	$0,074 \pm 0,006^{\#}$	$0,078 \pm 0,003^{\#}$	$0,081 \pm 0,004^{\#}$
LASSBio-753 0,1 mg/kg	$0,054 \pm 0,005$ (3,5%)	$0,067 \pm 0,004$ (9,4%)	$0,067 \pm 0,002$ (14,1%)*	$0,065 \pm 0,004$ (19,7%)*

LASSBio-753 1,0 mg/kg	0,045 ± 0,002 (19,6%)	0,052 ± 0,008 (29,7%)*	0,058 ± 0,003 (25,6%)*	0,056 ± 0,003 (30,8%)*
LASSBio-753 10 mg/kg	0,034 ± 0,002 (39,2%)*	0,032 ± 0,003 (56,7%)*	0,028 ± 0,002 (64,1%)*	0,023 ± 0,002 (71,6%)*
Indometacina 10 mg/kg	0,033 ± 0,001 (41%)*	0,047 ± 0,002 (36,4%)*	0,045 ± 0,011 (42,3%)*	0,038 ± 0,002 (53%)*

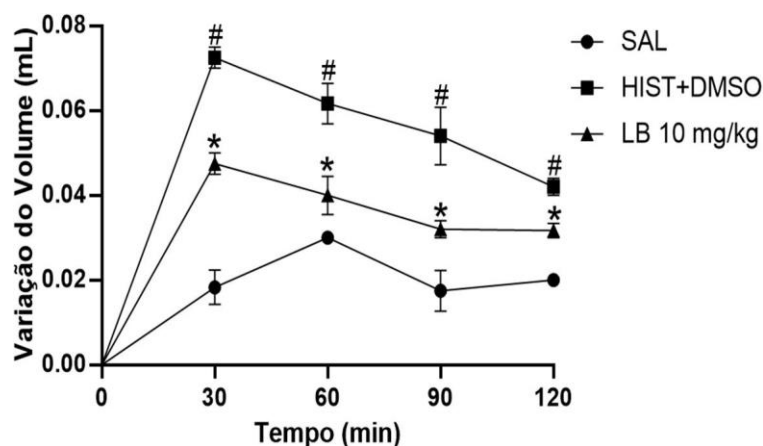
Legenda: Os dados estão expressos como média ± E.P.M. de 6 camundongos para cada grupo. #P<0,05 indica diferença significativa com o grupo salina e *P <0,05 indica diferença significativa com o grupo carragenina (Cg). A análise estatística foi realizada por meio do teste ANOVA seguido pelo teste de Newman-Keuls.

5.2 Ação do LASSBio-753 sobre o edema de pata induzido por histamina e serotonina

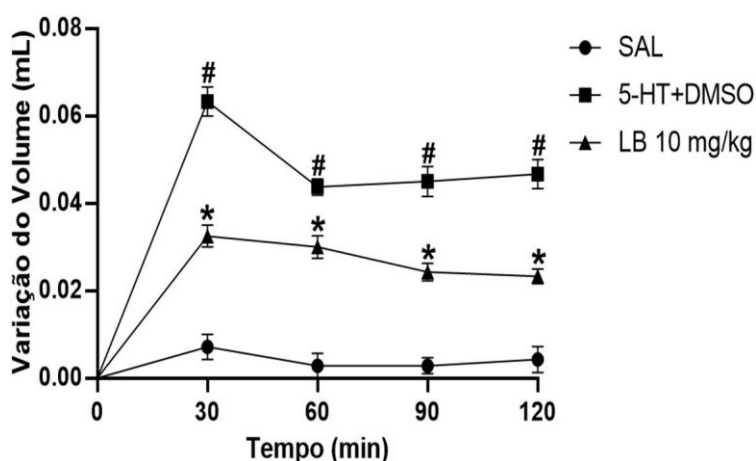
A figura 14A mostra que a injeção intraplantar de histamina provocou o aumento significativo (0,07± 0,002 ml) do volume das patas no intervalo de tempo medidos com o pico inflamatório em trinta minutos após a indução deste mediador em comparação ao grupo salina (0,01± 0,004 ml), determinando o potencial inflamatório do agente vasoativo histamina. Outro ponto a ser observado é que o composto semissintético (LASSBio-753) na dose de 10 mg/kg mostrou-se eficaz em todos os intervalos temporais medidos, com uma redução significativa no pico deste edema (0,04± 0,002 ml) e em todas as medições em comparação ao grupo que receberam apenas histamina. De modo semelhante, a figura 14B demonstra que a aplicação intraplantar do mediador inflamatório serotonina (5-HT) em camundongos, no qual observa-se o aumento do volume plantar também estatisticamente significativo (0,06 ± 0,003 ml) comparado ao grupo salina (0,007± 0,002 ml), com a apresentação do pico inflamatório nos primeiros trinta minutos. Semelhante ao modelo de histamina, o LASSBio-753 mostrou-se eficaz em modular a atividade inflamatória em todas as medições analisadas (0,03± 0,002 ml) em relação ao grupo serotonina.

Figuras 14A e 14B: Atividade Anti-inflamatória do LASSBio- 753 sobre o edema de pata induzido por histamina e serotonina.

14A



14B



Legenda: Atividade anti-inflamatória do composto sintético LASSBio-753 nos edemas de pata induzidos por histamina (10A) e serotonina (10B) em camundongos. Os dados estão expressos como média \pm E.P.M. de seis camundongos para cada grupo. [#]P<0,05 indica diferença significativa com o grupo salina e ^{*}P <0,05 indica diferença significativa com o grupo controle positivo (histamina e serotonina). A análise estatística foi realizada por meio do teste ANOVA seguido pelo teste de Newman- Keuls.

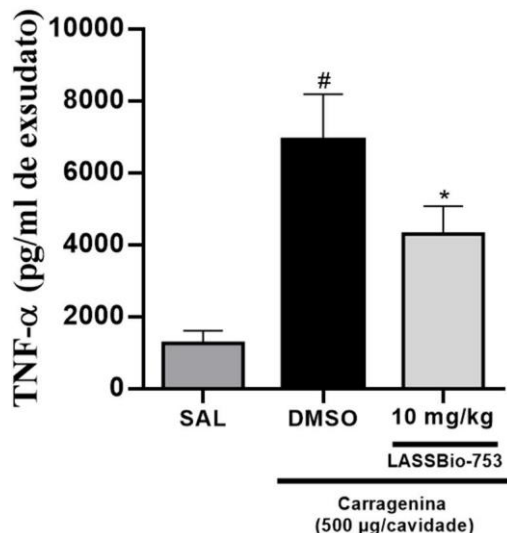
5.3 Atividade anti-TNF- α do LASSBio- 753 no lavado peritoneal induzido por carragenina

Conforme a figura 15, é notável que os animais com peritonite induzida por carragenina apresentaram aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) dos níveis de TNF- α (6905 ± 572 pg/ml) quando comparado ao grupo controle negativo salina (1261 ± 155 g/ml). Dessa forma demonstrando o potencial inflamatório do agente flogístico. Em contrapartida, os animais tratados com o LASSBio-753 na dose

de 10 mg/kg reduziram de forma significativa (4296 ± 346 pg/ml) os níveis de TNF- α .

Figura 15: Atividade anti-TNF- α do LASSBio- 753 no lavado peritoneal induzido por carragenina.

Legenda: Quantificação da citocina pró inflamatória TNF- α no modelo de peritonite induzida por

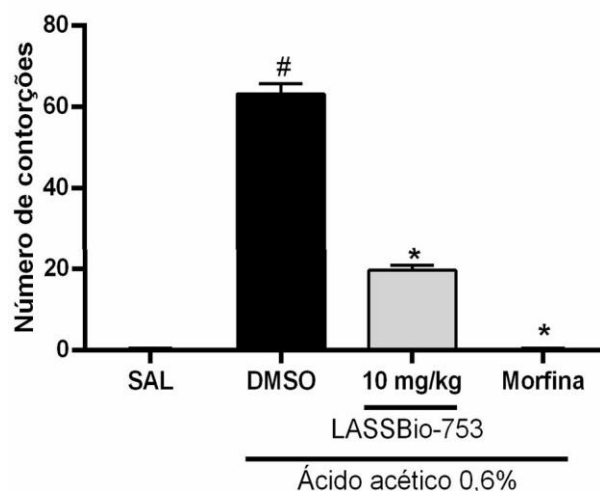


carragenina. Os dados estão expressos como média \pm E.P.M. de seis camundongos para cada grupo. #P<0,05 indica diferença significativa com o grupo salina e *P <0,05 indica diferença significativa com o grupo carragenina (Cg). A análise estatística foi realizada por meio do teste ANOVA seguido pelo teste de Newman- Keuls.

5.4 Atividade do LASSBio- 753 em teste de contorção abdominal induzido por ácido acético

Conforme a figura 16 é evidente no presente ensaio que houve um aumento estatisticamente significativo ($63,17 \pm 2,548$) da quantidade contabilizada de contorções abdominais observadas no grupo que recebeu somente ácido acético e posteriormente a aplicação intraperitoneal de DMSO a 4% em comparação ao que foi induzido apenas com solução salina ($0,2 \pm 0,2$). Além disso, outro ponto relevante no ensaio é que o LASSBio-753 na dose de 10 mg/kg ($19,67 \pm 1,256$) mostrou-se eficaz em reduzir de forma significativa as contorções provocadas por ácido acético. No entanto, o grupo morfina ($0,2 \pm 0,2$) mostrou-se uma maior redução quantitativa no número de contorções em relação ao grupo ácido acético.

Figura 16: Atividade anti-inflamatória do LASSBio- 753 sobre contorção abdominal induzido por ácido acético.



Legenda: Atividade antinociceptiva do composto sintético LASSBio-753 no teste contorção abdominal de induzido por ácido acético em camundongos. Os dados estão expressos como média \pm E.P.M. de seis camundongos para cada grupo. # $P < 0,05$ indica diferença significativa com o grupo salina e * $P < 0,05$ indica diferença significativa com o grupo DMSO. A análise estatística foi realizada por meio do teste ANOVA seguido pelo teste de Newman-Keuls.

6. DISCUSSÃO

O ponto inicial deste estudo foi avaliar a atividade anti-inflamatória do composto LASSBio-753, para isso foi utilizado o modelo clássico de avaliação de atividade anti-inflamatória de novos fármacos, que é o edema de pata induzido por carragenina. Esse ensaio é caracterizado por um edema bifásico, sendo o primeiro o vascular e o segundo caracterizado por exsudação celular. Inicialmente, o agente inflamatório carragenina é reconhecido através dos receptores tipo Toll Like como um padrão molecular não pertencente ao organismo, no qual células inflamatórias, como os mastócitos liberam substâncias vasoativas, como histamina, serotonina e prostaglandinas (Hijazy *et al.*, 2022; Aguchi *et al.*, 2024). Dessa forma, a fase inicial da inflamação induzida por carragenina ocorre nas primeiras duas horas é marcada pelos eventos vasculares, que apresenta uma pequena variação de volume advinda da exsudação dos componentes não celulares do plasma através do processo de vasodilatação e distanciamento entre as células que compõe o endotélio (Sousa *et al.*, 2024; Khan *et al.*, 2024).

Já a fase tardia é caracterizada pela migração de células do sistema imune,

principalmente neutrófilos, para o sítio inflamatório através da permeabilidade vascular advinda dos eventos da fase inicial e pelo aumento de citocinas pró inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , as quais atuam como fatores quimiotáticos e induzem a transcrição de genes relacionados às moléculas de adesão endoteliais, como a e-selectinas e ICAM-1, no qual favorecem o processo de rolamento das células, com posterior diapedese para o sítio alvo (Carabriso *et al.*, 2023; Khan *et al.*, 2024). Por conta disso, a partir da terceira hora após a indução, ocorre o aumento maior do volume da pata comparando a da primeiras duas horas, promovido pela alta exsudação de células inflamatórias para o sítio alvo da indução pelo agente flogístico (Hijazy *et al.*, 2022; Khan *et al.*, 2024). Consequentemente, pode-se demonstrar então que no presente resultado o LASSBio-753 modulou de forma negativa as duas fases da inflamação induzida por carragenina, ou seja, a fase vascular e celular da inflamação (Sousa *et al.*, 2024; Khan *et al.*, 2024).

Outro ponto chave no experimento é a respeito do tratamento com Dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 4% v/v tanto no grupo carragenina quanto nos outros grupos de controle positivos dos edemas induzidos por mediadores vasoativos. De acordo com Hoang *et al.*, 2021, tal composto não apresenta propriedades terapêuticas nem tóxicas em baixas concentrações, agindo apenas como solução diluidora e carreadora de fármacos a fim de aumentar a biodisponibilidade de tais moléculas. Dessa forma, o grupo controle positivo de ambos os experimentos de edema foram tratados com DMSO a 4%, com a finalidade de comprovar que a redução observada foi promovida pelo tratamento com compostos supracitados e não pelo agente diluidor DMSO na concentração de 4% v/v.

Com o conhecimento da melhor dose do LASSBio-753 foram feitos dois novos testes de edema de pata utilizando os mediadores vasculares da inflamação como histamina e serotonina. É bem consolidado na literatura as ações da histamina e 5-HT como aminas vasoativas que desempenham papéis fundamentais no processo inflamatório através do aumento da permeabilidade vascular. A histamina é fundamental para a contração e separação das células, pelo qual tal processo é iniciado a partir da ativação de receptores H1 presentes em células endoteliais, produzindo assim um aumento dos espaços entre as células, facilitando o extravasamento de substâncias e de leucócitos para o espaço intersticial. Além de seu papel na vasculatura, é importante destacar que essa amina tem um efeito ativador

sobre a fosfolipase A2, enzima responsável pela formação de prostaglandinas. As ações de 5-HT se assemelham às da histamina (Saikia *et al.*, 2024). Os resultados mostram que o LASSBio-753 é capaz de diminuir o edema induzido pela histamina e serotonina ao longo da formação do edema. Dessa forma, os testes *in vivo* induzidos pelos mediadores inflamatórios demonstraram que o LASSBio-753 modula negativamente a liberação de aminas vasoativas durante a inflamação aguda.

Posteriormente, foi realizada a quantificação do TNF- α presente no líquido peritoneal para avaliar se o efeito anti-inflamatório do LASSBio-753 analisado em ensaios anteriores de edema de pata é decorrente do mecanismo de ação imunomodulador comparável ao da talidomida. Os resultados do ensaio de peritonite induzida por carragenina demonstraram que o composto ftalimidico acilidrazônico LASSBio-753, na dose de 10 mg/kg, inibiu significativamente os níveis da citocina pró-inflamatória TNF- α presentes no líquido peritoneal.

Estudos recentes, como o de (Lecca *et al.*, 2023; Oleinikovas *et al.*, 2024), demonstraram que a talidomida é considerada uma droga imunomoduladora por ativar o Sistema Ubiquitina-Proteassoma (SUP) no citoplasma de leucócitos, pelo qual é responsável pela degradação de proteínas consideradas não necessárias ou em altas concentrações no citoplasma. Quando ocorre o início de um processo inflamatório, ocorre a ativação de vias inflamatórias, que promovem a transcrição de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α . A talidomida atua ativando o SUP que atua na modificação ou na degradação de fatores de transcrição de TNF- α . Dessa forma, a talidomida modula o processo inflamatório através da inibição de uma das principais citocinas responsáveis por intensificar a inflamação. (Gao *et al.*, 2020; Yamanaka *et al.*, 2021; Lecca *et al.*, 2023; Oleinikovas *et al.*, 2024).

O derivado semissintético LASSBio-753 apresenta em sua estrutura química o grupamento isoindol-1,3-diona da talidomida conjugado a um radical N-acilhidrazona. Essa nova combinação molecular resulta na eliminação da isomeria óptica presente na talidomida, a qual é responsável por seus efeitos teratogênicos e tóxicos (Nascimento *et al.*, 2019; Oleinikovas *et al.*, 2024). Dessa forma, o possível mecanismo de ação anti-inflamatório do LASSBio-753 é através da modulação da degradação dos fatores de transcrição dos genes de TNF- α pelo sistema ubiquitina-proteassoma no citoplasma de leucócitos presentes no sítio da lesão.

Por fim, foi realizado o teste de contorção por ácido acético para avaliar o

possível efeito analgésico do LASSBio-753 em reduzir a hipernocicepção periférica. Assim foi realizado um modelo de avaliação de dor visceral, a qual utiliza-se o irritante químico para provocar inflamação nos tecidos através da lesão e liberação de DAMPs no tecido acometido. A irritação leva a liberação de vários mediadores inflamatórios, como histamina, prostaglandina e substância P, no qual promovem a permeabilidade vascular e a hipersensibilização de nociceptores (Henneh *et al.*, 2021). O fenômeno observado em tal avaliação experimental está diretamente relacionado fisiologicamente com a resposta dos estímulos sensoriais captados, pelo qual são transmitidos pelos neurônios aferentes até a medula espinhal, onde o sinal é rapidamente decodificado e é transmitido sinais de contração da musculatura abdominal através de neurônios motores eferentes (Takahashi *et al.*, 2021). Dessa forma, é possível correlacionar o número de contorções com o nível de nocicepção observado no experimento.

Semelhante ao estudo de (Viana *et al.*, 2022), foi utilizado o composto LASSBio-596 em um ensaio de contorção abdominal, o composto ftalimidico LASSBio-753 na concentração de 10mg/kg também demonstrou o potencial antinociceptivo por reduzir cerca de 31,3% o número quantitativo de contorções em comparado ao grupo ácido acético. Dessa forma, é perceptível que o LASSBio-753 apresenta efeito antinociceptivo através da redução de mediadores químicos associados a hipersensibilização dos nociceptores.

7. CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que o LASSBio-753, na dose 10 mg/kg, apresentou atividade anti-inflamatória, através da redução dos edemas de pata induzidos por carragenina e histamina e serotonina podendo está diretamente relacionada com a ação imunomoduladora do LASSBio-753 sobre a citocina pró-inflamatória TNF- α observado no ensaio de lavado peritoneal. Dessa forma, reduzindo os mediadores responsáveis pelos fenômenos vasoativos e exsudativos da inflamação. Assim, o composto semissintético demonstra efeitos promissores deste composto na atenuação da inflamação aguda. Ademais, ao mesmo tempo tal molécula mostrou-se ter potencial antinociceptivo pela redução do número de contorções abdominais, estando relacionado com a redução de mediadores químicos responsáveis pela hipersensibilização dos nociceptores no sítio inflamatório. Portanto, o LASSBio-753 é um semissintético promissor para o tratamento de diversas condições

inflamatórias e hiperalgésicas. Contudo, são necessários mais estudos para analisar o real potencial do composto ftalimidico LASSBio-753 na indústria farmacêutica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFRIDI, B. et al. Pain Perception and Management: Where do We Stand? **Current molecular pharmacology**, v. 14, n. 5, p. 678-688, 2021.

AGUCHI, K. et al. Anti-edematous effects of epinastine, cetirizine and its enantiomers in λ -carrageenan-induced edema in rat hind paw. *Pharmazie*, v. 79, n. 6, p. 98-100, 2024. BALDO, B. A. Toxicities of opioid analgesics: respiratory depression, histamine release, hemodynamic changes, hypersensitivity, serotonin toxicity. **Archives of toxicology**, v. 95, n. 8, p. 2627-2642, 2021.

AHANGARI, G.; NORIOUN, H. The dual role of dopamine and serotonin in cancer progression and inflammation: Mechanisms and therapeutic potential. **Neuroscience**, v. 569, p. 184-194, 2025.

AHMADI, M. et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: recent advances in the use of synthetic COX-2 inhibitors. **RSC medicinal chemistry**, v. 13, n. 5, p. 471-496, 2022.

ALKOTOB, S. S. et al. Advances and novel developments in environmental influences on the development of atopic diseases. **Allergy**, v. 75, n. 12, p. 3077-3086, 2020.

ATTA, A. A. et al. Microglia polarization in nociplastic pain: mechanisms and perspectives. **Inflammopharmacology**, v. 31, n. 3, p. 1053-1067, 2023.

BARREIRO, ELIEZER J.; FRAGA, CARLOS ALBERTO MANSSOUR. **Química Medicinal-: As bases moleculares da ação dos fármacos**. Artmed Editora, 2014.

BARKER, K. H. et al. Sensitization of colonic nociceptors by TNF α is dependent on TNFR1 expression and p38 MAPK activity. **The journal of physiology**, v. 600, n. 16, p. 3819-3836, 2022.

BEHRENS, EDWARD M. Cytokines in Cytokine Storm Syndrome. **Cytokine Storm Syndrome**, p. 173-183, 2024.

BERNARDINO, L. Histamine in the crosstalk between innate immune cells and neurons: Relevance for brain homeostasis and disease. In: **Current Topics in Behavioral Neurosciences**. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 261-288.

BESSONE, F. et al. Serious liver injury induced by Nimesulide: an international collaborative study. **Archives of toxicology**, v. 95, n. 4, p. 1475-1487, 2021.

BUENO J. R.; REUBEN A.; NEUMEISTER; M. W. Pain Management in Plastic Surgery An Issue of Clinics in Plastic Surgery. **Elsevier Health Sciences**, 2020.

CALABRISO, N. et al. Epigenetic mechanisms in vascular inflammation: Modulation of endothelial adhesion molecules and endothelium-leukocyte adhesion. **Frontiers in Bioscience-Landmark**, v. 28, n. 9, 2023.

CALDER, P. C. Eicosanoids. **Essays in biochemistry**, v. 64, n. 3, p. 423-441, 2020.

CARNEIRO, M. S. Papel periférico e central dos receptores P2X7 nos mecanismos de dor nociceptiva na atm de ratos. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Sobral: [2023].

CATLETT, Ian M. et al. Molecular and clinical effects of selective tyrosine kinase 2 inhibition with deucravacitinib in psoriasis. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 149, n. 6, p. 2010-2020. e8, 2022.

CHAGANTI, T. et al. Medicinal chemistry gone wild. **Journal of medicinal chemistry**, v. 67, n. 9, p. 6899-6905, 2024.

CHAVES, LUCIANO DE SOUSA et al. Antiinflammatory and antinociceptive effects in mice of a sulfated polysaccharide fraction extracted from the marine red algae *Gracilaria caudata*. **Immunopharmacology and immunotoxicology**, v. 35, n. 1, p. 93-100, 2013.

CHEN, T. et al. Quercetin inhibits TNF- α induced HUVECs apoptosis and inflammation via downregulating NF- κ B and AP-1 signaling pathway in vitro. **Medicine**, v. 99, n. 38, p. e22241, 2020.

DAVIAUD, C. et al. Polymethoxyflavones from *Gardenia oudiepe* and semi-synthetic derivatives reduce nociception in mice: Evidence for the involvement of the MAPK pathway. **Biomedecine & pharmacotherapie [Biomedicine & pharmacotherapy]**, v. 182, n. 117742, p. 117742, 2025.

DA SILVA, G. F. et al. Anti-inflammatory and anti-hypersensitive effects of the chalcone isocor doin and its semisynthetic derivatives in mice. **Behavioural pharmacology**, v. 31, n. 8, p. 716-727, 2020.

DA SILVA SOUSA, João Janilson et al. Activation of resident immune cells induces enteric neuronal death. **Medical Hypotheses**, v. 195, p. 111555, 2025.

DAS, U. N. Infection, inflammation, and immunity in sepsis. **Biomolecules**, v. 13, n. 9, p. 1332, 2023.

DE MAGALHÃES, S. F. et al. Inflammatory pain in peripheral tissue depends on the activation of the TNF- α type 1 receptor in the primary afferent neuron. **The European journal of neuroscience**, v. 53, n. 2, p. 376-389, 2021.

DE SANCTIS, J. B. Innate immune response in hypertension. **Current**

pharmaceutical design, v. 28, n. 36, p. 2984-2990, 2022.

DIAS, J. M. et al. Gabapentin, a synthetic analogue of gamma aminobutyric acid, reverses systemic acute inflammation and oxidative stress in mice. **Inflammation**, v. 37, n. 5, p. 1826-1836, 2014.

DOS SANTOS NASCIMENTO, I. J.; DE AQUINO, T. M.; DA SILVA JÚNIOR, E. F. Computer-aided drug design of anti-inflammatory agents targeting microsomal prostaglandin E2synthase-1 (mPGES-1). **Current medicinal chemistry**, v. 29, n. 33, p. 5397-5419, 2022.

DVORNIKOVA, K. A.; PLATONOVA, O. N.; BYSTROVA, E. Y. Inflammatory bowel disease: Crosstalk between histamine, immunity, and disease. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 12, p. 9937, 2023.

ELTAY, E. G.; VAN DYKE, T. Resolution of inflammation in oral diseases. **Pharmacology & therapeutics**, v. 247, n. 108453, p. 108453, 2023.

EVANGELATOS, G. et al. The second decade of anti-TNF-a therapy in clinical practice: new lessons and future directions in the COVID-19 era. **Rheumatology international**, v. 42, n. 9, p. 1493-1511, 2022.

FERNANDES, G. F. S. et al. Phthalimide as a versatile pharmacophore scaffold: Unlocking its diverse biological activities. **Drug development research**, v. 84, n. 7, p. 1346-1375, 2023.

FINNERUP, N. B.; KUNER, R.; JENSEN, T. S. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment. **Physiological reviews**, 2020.

GAO, S. et al. Recent advances in the molecular mechanism of thalidomide teratogenicity. **Biomedecine & pharmacotherapie [Biomedicine & pharmacotherapy]**, v. 127, n. 110114, p. 110114, 2020.

GHOLAP, A. D. et al. Advances in artificial intelligence for drug delivery and development: A comprehensive review. **Computers in biology and medicine**, v. 178, n. 108702, p. 108702, 2024.

GRAY, J. I.; FARBER, D. L. Tissue-resident immune cells in humans. **Annual review of immunology**, v. 40, n. 1, p. 195-220, 2022.

GRONDIN, J. A.; KHAN, W. I. Emerging roles of gut serotonin in regulation of immune response, Microbiota composition and intestinal inflammation. **Journal of the Canadian Association of Gastroenterology**, v. 7, n. 1, p. 88-96, 2024.

GÜTSCHOW, M. et al. Breakthroughs in Medicinal Chemistry: New Targets and Mechanisms, New Drugs, **New Hopes–7. Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 13, p. 2968, 2020.

HAQ, S.; GRONDIN, J. A.; KHAN, W. I. Tryptophan-derived serotonin-kynurenine balance in immune activation and intestinal inflammation. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v.

35, n. 10, 2021.

HENNEH, I. T. et al. Analgesic effect of *Ziziphus abyssinica* involves inhibition of inflammatory mediators and modulation of KATP channels, opioidergic and nitroergic pathways. **Frontiers in pharmacology**, v. 12, 2021.

HELLENBRAND, D. J. et al. Inflammation after spinal cord injury: a review of the critical timeline of signaling cues and cellular infiltration. **Journal of neuroinflammation**, v. 18, n. 1, 2021.

HIJAZY, H. H. A. et al. Thymoquinone counteracts oxidative and inflammatory machinery in carrageenan-induced murine paw edema model. **Environmental science and pollution research international**, v. 30, n. 6, p. 16597-16611, 2022.

HOANG, Cuong et al. Application of dimethyl sulfoxide as a therapeutic agent and drug vehicle for eye diseases. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 37, n. 8, p. 441-451, 2021.

JIANG, W. et al. Inflammation and histone modification in chronic pain. **Frontiers in immunology**, v. 13, 2023.

JIANG, W.; XU, J. Immune modulation by mesenchymal stem cells. **Cell proliferation**, v. 53, n. 1, 2020.

JUNG, HYO JAE; CHO, DUK-YEON; HAN, JUN-HYUK; *et al.* Synthesis of 1-(4-(dimethylamino)phenyl)-3,4-diphenyl-1H-pyrrole-2,5-dione analogues and their anti-inflammatory activities in lipopolysaccharide-induced BV2 cells. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, vol. 92, no. 129408, p. 129408, 2023. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2023.129408>>.

KASSAB, A. E. N-acylhydrazone pharmacophore's analgesic and anti-inflammatory profile: Recent advancements during the past ten years. **Current pharmaceutical design**, v. 30, n. 5, p. 333-351, 2024.

KHAN, M. M. et al. Anti-inflammatory effects of *Chrozophora plicata* uncovered using network pharmacology and in-vivo carrageenan paw edema model. **Heliyon**, v. 10, n. 3, p. e24617, 2024.

KOSTER, R. Acetic acid for analgesics screening. In: **Fed proc.** 1959. p. 412-417.
KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C. Robbins y Cotran. **Patología estructural y funcional**. Elsevier Health Sciences, 2021.

KURESHI, C. T.; DOUGAN, S. K. Cytokines in cancer. **Cancer cell**, v. 43, n. 1, p. 15-35, 2025.

LANHERS, M. C. et al. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties of *Euphorbia hirta*. **Planta medica**, v. 57, n. 3, p. 225-231, 1991.

ŁAŻEWSKA, DOROTA; KIEĆ-KONONOWICZ, KATARZYNA. Histamine H3 receptor antagonists/inverse agonists: a patent review (October 2017-December 2023)

documenting progress. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, n. just-accepted, 2025.

LECCA, DANIELA et al. Novel, thalidomide-like, non-cereblon binding drug tetrafluorobornylphthalimide mitigates inflammation and brain injury. **Journal of biomedical science**, v. 30, n. 1, p. 16, 2023.

LIU, C. et al. Cytokines: From clinical significance to quantification. **Advanced science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)**, v. 8, n. 15, 2021.

MAJDI ABUNEMER, R.; SAIFUDDIN SHAHEEN, R.; ABUDULLAH ALGHAMDI, R. Correlation of anti-TNF- α biological therapy with periodontal conditions and osteonecrosis in autoimmune patients: A systematic review. **The Saudi dental journal**, v. 35, n. 7, p. 785-796, 2023.

MAMEDE, C. C. N. et al. Edema, hyperalgesia and myonecrosis induced by Brazilian bothropic venoms: overview of the last decade. **Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology**, v. 187, p. 10-18, 2020.

MEARS, L.; MEARS, J. The pathophysiology, assessment, and management of acute pain. **British journal of nursing (Mark Allen Publishing)**, v. 32, n. 2, p. 58-65, 2023.

MEDEIROS, M. A. M. B. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydrazone derivatives and their possible mechanism of action in mice. **PloS one**, v. 16, n. 11, p. e0258094, 2021.

MIKUS, J. et al. Synthesis, biological, spectroscopic and computational investigations of novel N-acylhydrazone derivatives of pyrrolo[3,4-d]pyridazinone as dual COX/LOX inhibitors. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 28, n. 14, p. 5479, 2023.

NASCIMENTO, P. G. B. et al. Assessment of the analgesic and anti-inflammatory activity of LASSBio-753. Available at: <https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/43/108/43108868.pdf>. Accessed on: 25 Mar. 2024.

NGUYEN, S. M. T. et al. Mechanisms governing anaphylaxis: Inflammatory cells, mediators, endothelial gap junctions and beyond. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 15, p. 7785, 2021.

OISETH, S.; JONES, L.; GUIA, E. M. Recetores. Disponível em: <<https://www.lecturio.com/pt/concepts/recetores/>>. Acesso em: 17 feb. 2025.

OLEINIKOVAS, V. et al. From thalidomide to rational molecular glue design for targeted protein degradation. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 64, p. 291-312, 2024.

PANULA, P. Histamine receptors, agonists, and antagonists in health and disease. **Handbook of clinical neurology**, v. 180, p. 377-387, 2021.

PANIGRAHY, D. et al. Resolution of inflammation: An organizing principle in biology and medicine. **Pharmacology & therapeutics**, v. 227, n. 107879, p. 107879, 2021.

PARK, H. S. et al. Capmatinib suppresses LPS-induced interaction between HUVECs and THP-1 monocytes through suppression of inflammatory responses. **Biomedical journal**, v. 46, n. 2, p. 100534, 2023.

PATRONO, C. Fifty years with aspirin and platelets. **British journal of pharmacology**, v. 180, n. 1, p. 25-43, 2023.

PERRONE, M. G. et al. Cyclooxygenase inhibition safety and efficacy in inflammation-based psychiatric disorders. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 22, p. 5388, 2020.

PILLPE-MEZA, R. M. et al. Cytotoxic and antiproliferative activity of LASSBio-2208 and the attempts to determine its drug metabolism and pharmacokinetics in vitro profile. **Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)**, v. 17, n. 3, p. 389, 2024.

RANI, M. et al. Decrypting the cellular and molecular intricacies associated with COVID-19-induced chronic pain. **Metabolic brain disease**, v. 37, n. 8, p. 2629- 2642, 2022.

RAJU, AISWARYA et al. Effects of hip abductor with external rotator strengthening versus proprioceptive training on pain and functions in patients with patellofemoral pain syndrome: A randomized controlled trial. **Medicine**, v. 103, n. 7, p. e37102, 2024.

ROE, K. An inflammation classification system using cytokine parameters. **Scandinavian journal of immunology**, v. 93, n. 2, p. e12970, 2021.

RUIZ, Andy et al. Transmembrane TNF and its receptors TNFR1 and TNFR2 in mycobacterial infections. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 11, p. 5461, 2021.

SAIKIA, R. et al. Design, QSAR methodology, synthesis and assessment of some structurally different xanthone derivatives as selective cox-2 inhibitors for their anti-inflammatory properties. **Medicinal chemistry (Sharjah (United Arab Emirates))**, v. 20, n. 1, p. 78-91, 2024.

SARASOLA, M. DE LA P. et al. Histamine in cancer immunology and immunotherapy. Current status and new perspectives. **Pharmacology research & perspectives**, v. 9, n. 5, 2021.

SCHUMACHER, M. A. Peripheral neuroinflammation and pain: How acute pain becomes chronic. **Current neuropharmacology**, v. 22, n. 1, p. 6-14, 2024.

SHEIKHOESLAMI, M. N. et al. Untargeted metabolomics changes on *Gammarus pulex* induced by propranolol, triclosan, and nimesulide pharmaceutical drugs. **Chemosphere**, v. 260, n. 127479, p. 127479, 2020.

SILVA, D. K. C. et al. In Vitro, In Vivo and In Silico Effectiveness of LASSBio-1386,

an N-Acyl Hydrazone Derivative Phosphodiesterase-4 Inhibitor, Against *Leishmania amazonensis*. **Frontiers in pharmacology**, v. 11, 2020.

SINGH, R. B. et al. Ocular redness - I: Etiology, pathogenesis, and assessment of conjunctival hyperemia. **The ocular surface**, v. 21, p. 134-144, 2021.

SINNIAH, A.; YAZID, S.; FLOWER, R. J. From NSAIDs to glucocorticoids and beyond. **Cells (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 12, p. 3524, 2021.

SOARES, C. L. R. et al. Biochemical aspects of the inflammatory process: A narrative review. **Biomedecine & pharmacotherapie [Biomedicine & pharmacotherapy]**, v. 168, n. 115764, p. 115764, 2023.

SOUSA, A. K. DE et al. Theannonalide diterpene extracted from *Casimirella ampla* (Miers) reduces inflammatory and antinociceptive events in general models of inflammation. **Journal of ethnopharmacology**, v. 324, n. 117707, p. 117707, 2024.

TAKAHASHI, K. et al. Post-inflammatory abdominal pain in patients with inflammatory bowel disease during remission: A comprehensive review. **Crohn's & colitis** **360**, v. 3, n. 4, 2021.

VAN LOO, G.; BERTRAND, M. J. M. Death by TNF: a road to inflammation. **Nature reviews. Immunology**, v. 23, n. 5, p. 289-303, 2023.

VARGESSON, NEIL; STEPHENS, Trent. Thalidomide: history, withdrawal, renaissance, and safety concerns. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 20, n. 12, p. 1455-1457, 2021.

VEALE, C. G. L. Into the fray! A beginner's guide to medicinal chemistry. **ChemMedChem**, v. 16, n. 8, p. 1199-1225, 2021.

VIANA, M. D. M. et al. LASSBio-596: A new pre-clinical candidate for rheumatoid arthritis? **Inflammation**, v. 45, n. 2, p. 528-543, 2022.

WALLDORF, Jens et al. The selective 5-HT_{1A} agonist SR57746A protects intestinal epithelial cells and enteric glia cells and promotes mucosal recovery in experimental colitis. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 28, n. 3, p. 423-433, 2022.

WANG LH, DING WQ, SUN YG. Spinal ascending pathways for somatosensory information processing. **Trends Neurosci.** 2022 Aug;45(8):594-607. doi: 10.1016/j.tins.2022.05.005. Epub 2022 Jun 12. PMID: 35701247.

WANG, D. et al. All-flexible artificial reflex arc based on threshold-switching memristor. **Advanced functional materials**, v. 32, n. 21, p. 2200241, 2022.

WAUTIER, J.-L.; WAUTIER, M.-P. Pro- and anti-inflammatory prostaglandins and cytokines in humans: A mini review. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 11, p. 9647, 2023.

WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenin-induced edema in hind paw

of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**, v. 111, n. 3, p. 544-547, 1962.

YAMANAKA, SATOSHI et al. Thalidomide and its metabolite 5-hydroxythalidomide induce teratogenicity via the cereblon neosubstrate PLZF. **The EMBO journal**, v. 40, n. 4, p. e105375, 2021.

YUK, J.-M. et al. TNF in human tuberculosis: A double-edged sword. **Immune network**, v. 24, n. 1, 2024.

ZARGHI, A.; MAHBOUBI-RABBANI, M.; ABBASI, M. Natural-derived COX-2 inhibitors as anticancer drugs: A review of their structural diversity and mechanism of action. **Anti-cancer agents in medicinal chemistry**, v. 23, n. 1, p. 15-36, 2023.

ZHANG, Q.; CAO, X. Epigenetic remodeling in innate immunity and inflammation. **Annual review of immunology**, v. 39, n. 1, p. 279-311, 2021.

ZHANG, YINGRU; WANG, Yan. The dual roles of serotonin in antitumor immunity. **Pharmacological Research**, p. 107255, 2024.

ZIGTERMAN, B. G. R.; DUBOIS, L. Inflammation and infection: cellular and biochemical processes. **Nederlands tijdschrift voor tandheelkunde**, v. 129, n. 3, p. 125-129, 2022.

ANEXO I - Carta de aprovação no Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA).



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
Av. São Sebastião, 2819, Parnaíba, Piauí, Brasil; CEP: 64202-020.
Telefone (86) 3323-5251, E-mail: ceua.ufdpar@gmail.com
Site: <http://ufpi.br/ceua-comissao-de-etica-no-uso-de-animais>

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTICA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO COMPOSTO FTALIMÍDICO ACILIDRAZÔNICO LASSBIO-753", registrada sob protocolo Nº 008/20, de a responsabilidade do Prof. Dr. André Luiz dos Reis Barbosa do Curso de Fisioterapia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba/UFDPar, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de Pesquisa Científica e/ou Ensino, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (CEUA/UFDPar), em Reunião na presente data 11/09/2020.

Finalidade	() Ensino	(X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	Outubro/ 2020 à Novembro/ 2024	
Espécie/Linhagem/raça:	Camundongo heterogênico Swiss	
Nº de Animais:	282	
Peso/ Idade:	20-30g, 45-60 dias	
Sexo:	Fêmea	
Origem:	Biotério Geral da Universidade Federal do Piauí – UFPI Centro de Ciências Agrárias – CCA - Teresina-PI	

Parnaíba, 18 de setembro de 2020.

Prof. Dr. Jefferson Soares de Oliveira
Coordenador da CEUA/UFDPar