



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

JOANILDA PAOLLA RAIMUNDO E SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO DE *Acmella oleracea* (L.) R.K.
Jansen E DESENVOLVIMENTO DE UNIDADE DE ENTREGA NUTRACÊUTICA
PARA O TRATAMENTO SINTOMÁTICO DA SÍNDROME DA ARDÊNCIA BUCAL**

CAMPINA GRANDE-PB

2021

JOANILDA PAOLLA RAIMUNDO E SILVA

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO DE *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen E DESENVOLVIMENTO DE UNIDADE DE ENTREGA NUTRACÊUTICA PARA O TRATAMENTO SINTOMÁTICO DA SÍNDROME DA ARDÊNCIA BUCAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.
Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Edja Maria Melo de Brito Costa

CAMPINA GRANDE-PB

2021

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S586c Silva, Joanilda Paolla Raimundo e.
Caracterização fitoquímica do extrato de *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen e desenvolvimento de unidade de entrega nutracêutica para o tratamento sintomático da síndrome da ardência bucal [manuscrito] / Joanilda Paolla Raimundo e Silva. - 2021.
77 p. : il. colorido.

Digitado.
Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2021.
"Orientação : Profa. Dra. Edja Maria Melo de Brito Costa, Departamento de Odontologia - CCBS."
1. Fitoquímica. 2. Plantas medicinais. 3. Síndrome da ardência bucal. I. Título

21. ed. CDD 615.321

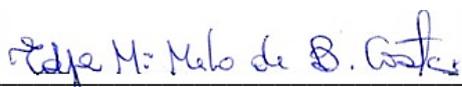
JOANILDA PAOLLA RAIMUNDO E SILVA

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO DE *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen E DESENVOLVIMENTO DE UNIDADE DE ENTREGA NUTRACÊUTICA PARA O TRATAMENTO SINTOMÁTICO DA SÍNDROME DA ARDÊNCIA BUCAL

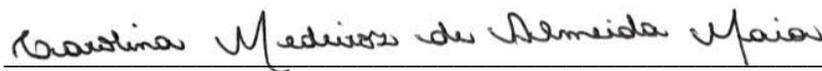
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Aprovada em: 08/07/2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dr^a. Edja Maria Melo de Brito Costa / UEPB
(Orientadora)



Prof^a. Dr^a. Carolina Medeiros de Almeida Maia / Faculdade Rebouças
(Examinador externo)



Prof^a. Dr^a. Jozinete Vieira Pereira / UEPB
(Examinador interno)

Aos meus pais e irmãos, por serem minha maior
motivação, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser a expressão de fortaleza ao decorrer desse processo e em minha vida.

À minha família, especialmente aos meus pais Maria e Rivaldo, pelo incentivo, afeto e ensinamentos constantes. Por vocês, agradeço e dedico todos os meus projetos.

À minha amável irmã Joanda, por toda contribuição científica e análises desenvolvidas. Obrigada por seu empenho e dedicação.

À minha querida orientadora Edja Costa, pela confiança, o carinho, os conselhos e por todos os momentos compartilhados. Agradeço por toda motivação e inspiração.

À professora Jozinete Vieira, por sempre incentivar, com carinho, o meu crescimento. Ao professor Manoel Tolentino, pela disponibilidade e atenção em contribuir com a realização deste trabalho.

Às minhas amigas Karla, Danielle e Luizy, por cotidianamente me recordarem qual a real motivação de ter escolhido a docência. Obrigada por todo ânimo e afeto.

Ao grupo de pesquisa, em especial a Priscilla Guimarães e Carolina Medeiros, por todos os momentos divertidos e dificuldades compartilhadas. À minha prima Francisca, pelo carinho e apoio. A todas as amizades feitas ao longo das análises, nas pessoas de Mylena, Renata, Juliana, Alexandre, Armando e Jacó, que me receberam de braços abertos e mostraram-se solícitos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), por intermédio de seus professores e funcionários, pela dedicação e apoio desempenhados na construção do conhecimento científico.

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB), por fornecer os equipamentos para o desenvolvimento das análises.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro que viabilizou a produção deste projeto.

RESUMO

A síndrome da ardência bucal (SAB) é uma desordem crônica caracterizada por sensação de queimação ou dor na mucosa oral, ainda sem etiologia e tratamento definidos, e representa uma condição mórbida que frequentemente prejudica a qualidade de vida dos acometidos. A *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen apresenta várias biopropriedades, como atividade antinociceptiva, anti-inflamatória, antioxidante e neuroprotetora, que podem torná-la uma fonte nutracêutica promissora no tratamento da SAB. Este trabalho teve como objetivo analisar o perfil fitoquímico do extrato de *A. oleracea* tratado com carvão ativo e desenvolver uma unidade de entrega nutracêutica para o tratamento sintomático da SAB. O extrato etanólico das flores de *A. oleracea* foi obtido por maceração em etanol a 95° GL (EEB), e tratado com 4% de carvão ativo (EEBT). O perfil fitoquímico do EEBT foi analisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplado a Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray (CLAE-EMⁿ-IES). O padrão analítico foi obtido através do isolamento de espilantol, a partir do EEBT, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplado a um Detector de Arranjo de Diodo (CLAE-DAD) e sua estrutura foi confirmada por Ressonância Magnética Nuclear (RMN). A quantificação do espilantol nos extratos (EEB e EEBT) foi analisada através da construção de uma curva de analítica por CLAE-DAD, utilizando o padrão analítico e amostras. Realizou-se o docking molecular para avaliar as interações do espilantol e alquilamidas identificadas no EEBT com os receptores alvos TRPV1 e CB₂, descritos na patogênese da SAB. A formulação nutracêutica foi produzida a base de gelatina e edulcorantes anticariogênicos, incorporada com EEBT de *A. oleracea*. Obteve-se um rendimento para EEBT de 5.2%, e seu perfil fitoquímico revelou a presença de nove alquilamidas com destaque para o espilantol, além da presença de compostos fenólicos. O EEBT exibiu aumento significativo no teor de espilantol em comparação ao EEB, de 28.33 mg/g para 117.96 mg/g. O docking molecular apontou um possível comportamento das alquilamidas como agonistas parciais do TRPV1 e agonistas do CB₂, sugerindo possíveis atividades antinociceptivas e anti-inflamatórias. O EEBT de *A. oleracea* apresentou perfil fitoquímico e comportamentos moleculares, que podem subsidiar o desenvolvimento de uma formulação nutracêutica, como uma possível alternativa para o tratamento sintomático da SAB.

Palavras-chave: Fitoquímica. Plantas medicinais. Síndrome da ardência bucal.

ABSTRACT

Burning Mouth Syndrome (BMS) is a chronic disorder characterized by a burning sensation or pain in the oral mucosa, yet without defined etiology and treatment, and represents a morbid condition that often impairs the quality of life of those affected. *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen has several bioproperties, such as antinociceptive, anti-inflammatory, antioxidant and neuroprotective activities, which may make it a promising nutraceutical source for the treatment of BMS. This work aimed to analyze the phytochemical profile of *A. oleracea* extract treated with activated charcoal and to develop a nutraceutical delivery unit for the symptomatic treatment of BMS. The ethanol extract of *A. oleracea* flowers was obtained by maceration in ethanol at 95° GL (EEB), and treated with 4% active charcoal (EEBT). The EEBT phytochemical profile was analyzed by High-Performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Mass Spectrometry (HPLC-ESI-MSⁿ). The analytical standard was obtained through the isolation of spilanthol, from the EEBT, by High Performance Liquid Chromatography coupled to a Diode Array Detector (HPLC-DAD) and its structure was confirmed by Nuclear Magnetic Resonance (NMR). The quantification of spilanthol in the extracts (EEB and EEBT) was analyzed through the construction of an analytical curve by HPLC-DAD, using the analytical standard and samples. Molecular docking was performed to evaluate the interactions of spilanthol and alkylamides identified in the EEBT with the TRPV1 and CB2 target receptors described in the pathogenesis of BMS. The nutraceutical formulation was produced based on gelatine and anticariogenic sweeteners, incorporated with *A. oleracea* EEBT. A 5.2% yield for EEBT was obtained, and its phytochemical profile revealed the presence of nine alkylamides, especially spilanthol, in addition to the presence of phenolic compounds. EEBT exhibited a significant increase in spilanthol content compared to EEB, from 28.33 mg/g to 117.96 mg/g. Molecular docking pointed to a possible behavior of alkylamides as TRPV1 partial agonists and CB2 agonists, suggesting possible antinociceptive and anti-inflammatory activities. The *A. oleracea* EEBT presented a phytochemical profile and molecular behavior, which may support the development of a nutraceutical formulation, as a possible alternative for the symptomatic treatment of BMS.

Keywords: Phytochemistry. Medicinal plants. Burning mouth syndrome.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Acmella oleracea</i> (L.) R.K. Jansen e seus capítulos florais.....	21
Figura 2 - Capítulos florais e folhas de <i>Acmella oleracea</i> (L.) R.K. Jansen.....	30
Figura 3 - Ilustração do processo de obtenção do extrato etanólico bruto.....	31
Figura 4 - Ilustração do processo de tratamento do extrato etanólico bruto com carvão ativo.....	32
Figura 5 - Pigmentação da tintura do extrato etanólico bruto das flores de <i>A. oleracea</i> , antes e após o tratamento com 4% de carvão ativo.....	37
Figura 6 - Cromatograma do pico base do extrato tratado de <i>A. oleracea</i> no modo positivo (A) no modo negativo (B).....	40
Figura 7 - Estrutura química do espilantol.....	41
Figura 8 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da subfração-T1.....	41
Figura 9 - Expansão I do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da subfração-T1.....	42
Figura 10 - Expansão II do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da subfração-T1.....	42
Figura 11 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da subfração-T1.....	43
Figura 12 - Cromatograma em 230 nm do espilantol isolado.....	43
Figura 13 - Pureza do pico do marcador espilantol e seu espectro ultravioleta.....	44
Figura 14 - Cromatograma do EEB de <i>A. oleracea</i> , o espilantol é observado no tempo de retenção de 25,65 minutos.....	44
Figura 15 - Cromatograma do EEBT de <i>A. oleracea</i> , o espilantol é observado no tempo de retenção de 25,52 minutos.....	45
Gráfico 1 - Curva de calibração do espilantol para o EEB.....	46
Gráfico 2 - Curva de calibração do espilantol para o EEBT.....	47

Figura 16 - Interações moleculares entre as alquilamidas 1-9, e os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da proteína TRPV1 (PDB ID 5IRX). A seta vermelha indica os resíduos de aminoácidos importantes para interação e resposta no sítio ativo.....	51
Figura 17 - Interações moleculares entre as alquilamidas 1-9, e os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da proteína CB2 (PDB ID 6pto).....	53
Figura 18 - Unidade de entrega nutracêutica desenvolvida contendo EEBT das flores de <i>A. oleracea</i>	55
Figura 19 - Aspecto visual das unidades de entrega mastigáveis durante o período de 30 dias.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização dos compostos presentes no extrato tratado de <i>A. oleracea</i> por CLAE-EM ⁿ -IES.....	38
Tabela 2 - Valores obtidos na produção da curva analítica para o EEB.....	45
Tabela 3 - Quantificação do espilantol no EEB.....	46
Tabela 4 - Valores obtidos na produção da curva analítica para o EEBT.....	47
Tabela 5 - Quantificação do espilantol no EEBT.....	48
Tabela 6 - Alquilamidas identificadas no EEBT de <i>A. oleracea</i> e aplicadas no estudo do docking molecular.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CB₁	Receptor Canabinóide tipo 1
CB₂	Receptor Canabinóide tipo 2
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
COX-2	Cicloxigenase-2
DAD	Detector de Arranjo de Diodo
DHEA	Desidroepiandrosterona
EEB	Extrato Etanólico Bruto
EEBT	Extrato Etanólico Bruto Tratado
EM	Espectrômetro de Massas
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FEMA	<i>Flavor and Extract Manufactures Association</i>
FRAP	Atividade Férrica Redutora do Plasma
GABA	Ácido Gama-aminobutírico
GL	Grau <i>Gay-Lussac</i>
HACAM	Herbário Manoel Arruda Câmera
HO-1	Heme Oxigenase-1
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IES	Ionização por Electrospray
IgA	Imunoglobulina A
IHS	<i>International Headache Society</i>
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-1β	Interleucina 1 Beta

IL-10	Interleucina 10
iNOS	Óxido Nítrico Sintase Induzível
K_{2P}	Canal de Potássio de dois poros
LAD	Laboratório de Análises e Diagnóstico
LMCA	Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises
NF-κB	Fator Nuclear Kappa B
PANCs	Plantas Alimentícias Não-Convencionais
PPGO	Programa de Pós-Graduação em Odontologia
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMSD	<i>Root-Mean-Square Distance</i>
SAB	Síndrome da Ardência Bucal
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
T.R	Tempo de Retenção
TRPA1	Receptor de Potencial Transitório Anquirina 1
TRPV1	Receptores de Potencial Transitório Vanilóide tipo 1
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Síndrome da Ardência Bucal	16
2.2	<i>Acmella oleracea</i> (L.) R.K. Jansen.....	21
2.3	Nutracêuticos	25
3	OBJETIVOS	29
3.1	Objetivo geral	29
3.2	Objetivos específicos	29
4	MATERIAIS E METÓDOS	30
4.1	Caracterização metodológica do estudo	30
4.2	Material vegetal	30
4.3	Extrato etanólico bruto (EEB)	31
4.4	Extrato etanólico bruto tratado com carvão ativo (EEBT)	31
4.5	Análise do perfil fitoquímico por CLAE-EMⁿ-IES	32
4.6	Isolamento e identificação de espilantol	32
4.6.1	<i>Isolamento por CLAE-DAD</i>	32
4.6.2	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</i>	33
4.7	Quantificação do espilantol	33
4.7.1	<i>Preparação da curva analítica</i>	33
4.7.1.1	<i>Solução estoque de espilantol</i>	33
4.7.1.2	<i>Preparação das soluções da curva analítica para o EEB</i>	34
4.7.1.3	<i>Preparação das soluções da curva analítica para o EEBT</i>	34
4.7.2	<i>Análises estatísticas</i>	34
4.8	Docking molecular	35
4.9	Produção das unidades de entrega mastigáveis	35
5	RESULTADOS	37
5.1	Rendimento do EEB e EEBT	37
5.2	Análise do perfil fitoquímico	37
5.3	Identificação e pureza do espilantol	41
5.4	Quantificação do espilantol no EEB e EEBT	44
5.5	Docking molecular	48
5.5.1	<i>Receptor TRPV1</i>	50

5.5.2	<i>Receptor CB₂</i>	52
5.6	Unidades de entrega mastigáveis.....	55
6	DISCUSSÃO.....	56
7	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

A síndrome da ardência bucal (SAB) representa uma condição crônica caracterizada por sensação de queimação ou dor na mucosa oral, sem evidências clínicas que justifiquem sua presença (GRUSHKA; EPSTEIN; GORSKY, 2002; GAO *et al.*, 2009). Acomete principalmente os dois terços anteriores da língua, sendo geralmente acompanhada de alterações do paladar e xerostomia (NETTO *et al.*, 2010; KOHORST *et al.*, 2015; JÄÄSKELÄINEN; WODA, 2017).

Considerando que ainda não há definição do tratamento para SAB, vários protocolos vêm sendo testados, tanto de natureza tópica como sistêmica, visando amenizar o quadro sintomático. Dentre as opções terapêuticas, encontram-se o clonazepam (KVESIC *et al.*, 2015; KUTEN-SHORRER *et al.*, 2017), ácido α -lipóico (BARBOSA *et al.*, 2018), capsaicina (JØRGENSE; PEDERSEN, 2016; AZZI *et al.*, 2017) e a terapia de fotobiomodulação (BARBOSA *et al.*, 2018; SPANEMBERG *et al.*, 2019). Alguns desses tratamentos podem produzir efeitos adversos, como náuseas, sensação de formigamento, distúrbios gastrointestinais (JØRGENSE; PEDERSEN, 2016), sonolência, fadiga e letargia (KUTEN-SHORRER *et al.*, 2017). A maioria das terapêuticas empregadas correspondem a segundo uso médico, possivelmente não atendendo a complexidade da SAB, tendo em vista, que os pacientes com SAB são pouco responsivos as terapias (MCMILLAN *et al.*, 2016; KIM; KHO, 2018). O manejo clínico continua desafiador, com escassez de evidências científicas de qualidade, que tornem plausível indicar um protocolo terapêutico que realmente atenda a sintomatologia da SAB (LIU *et al.*, 2018; CURRIE; JÄÄSKELÄINEN, 2020), assim comprometendo a qualidade de vida dos acometidos (NI RIORDAIN *et al.*, 2010; BRAUD; BOUCHER, 2016; REZAZADEHF *et al.*, 2021).

Evidencia-se a necessidade do desenvolvimento de uma opção terapêutica direcionada a gerenciar o quadro clínico da SAB. Nesta perspectiva, a *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen, representa uma fonte terapêutica com uma ampla gama de biopropriedades, dentre as quais, antinociceptiva, anti-inflamatória, antioxidante, neuroprotetora, sialagoga e moduladora das respostas gustativas (PRACHAYASITTIKUL *et al.*, 2013; SUWANJANG *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2019), que podem ser assertivas no manejo da SAB. As atividades biológicas são correlacionadas aos seus metabólitos secundários, em especial ao espilantol, seu bioativo majoritário (SILVEIRA; SANDJO; BIAVATTI, 2018; RONDANELLI *et al.*, 2020). A *A. oleracea* é conhecida popularmente no Brasil como jambu, amplamente utilizada na gastronomia regional para o preparo de pratos típicos da Amazônia, além de ser aplicada na

medicina tradicional para o tratamento da dor de dente e afecções na garganta (HOLETZ *et al.*, 2002; DUBEY *et al.*, 2013; BRASIL, 2014).

Nas últimas décadas, vários produtos à base do extrato de *A. oleracea* foram produzidos e aplicados nos campos farmacológico e cosmético, como composições anti-idade (MONTIEL, *et al.*, 2020), anestésicas e antissépticas (LOYOLA; ANDRADE, 2019), todavia, sua aplicação na indústria nutracêutica tem sido pouco explorada (SILVEIRA; SANDJO; BIAVATTI, 2018; UTHPALA; NAVARATNE, 2020; SANTOS *et al.*, 2021). Em função das suas propriedades biológicas, associada a baixa toxicidade e amplo uso popular (NOMURA *et al.*, 2013; STEIN *et al.*, 2021), a *A. oleracea* apresenta-se como uma fonte nutracêutica potencial para o desenvolvimento de formulações terapêuticas.

Os nutracêuticos são bioativos provenientes de uma fonte alimentar, responsáveis por desencadear efeitos benéficos à saúde, seja na prevenção ou no tratamento de doenças (AUGUSTIN; SANGUANSRI, 2012). Uma forma de administração comum para os nutracêuticos são as unidades de entrega mastigáveis, geralmente produzidas à base de gelatina (DILLE; DRAGET; HATTREM, 2018). São estruturas fáceis de administrar, em comparação as formas convencionais, representando uma alternativa promissora (ARAMWIT *et al.*, 2015; USHIKOSHI-NAKAYAMA *et al.*, 2019). Essas formas inovadoras pode atrair uma melhor aceitabilidade dos pacientes ao tratamento, ponto importante no manejo da SAB, tendo em vista a resistência a adesão aos protocolos farmacológicos (MCMILLAN *et al.*, 2016; KIM; KHO, 2018). Os nutracêuticos são um campo terapêutico em ascensão global, com uma taxa de previsão de crescimento anual de 7,04% entre 2016 e 2022 (PRASAD, 2016; BORODINA *et al.*, 2020), despertando a atenção para o delineamento de estudos.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar o perfil fitoquímico do extrato das flores de *A. oleracea* (L.) R.K. Jansen tratado com carvão ativo e desenvolver uma unidade de entrega nutracêutica para o tratamento sintomático da SAB, na perspectiva de fornecer uma opção terapêutica e melhorar a adesão do paciente ao tratamento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Síndrome da Ardência Bucal

De acordo com a *International Headache Society* (IHS) (2018), a SAB é descrita como dor crônica, caracterizada por sensação de queimação intraoral ou disestética, recorrente diariamente por mais de 2 horas, com duração superior a 3 meses, e sem causa local ou sistêmica detectável.

O sítio anatômico mais afetado é a língua, em seus dois terços anteriores, seguido pelo palato duro e mucosa labial (NETTO *et al.*, 2010; KOHORST *et al.*, 2015). Os sintomas são tipicamente bilaterais e variam de leves a moderados, de acordo com o estado emocional e dieta (TAIT; FERGUSON; HERNDON, 2017), com relatos de alívio da dor com a ingestão de alimentos doces (SCHÖBEL *et al.*, 2012; FORSELL *et al.*, 2012). O quadro clínico é frequentemente acompanhado de xerostomia e disgeusia (MENDAK-ZIÓŁKO; KONOPKA; BOGUCKI, 2012; LIMA *et al.*, 2016; REZAZADEHF *et al.*, 2021). A SAB pode se estender por muitos anos, comprometendo significativamente a qualidade de vida dos portadores (MCMILLAN *et al.*, 2016; BRAUD; BOUCHER, 2016; KIM; KHO, 2018).

A prevalência da SAB é estimada entre 1% a 15% (TAMMIALA-SALONEN; HIIDENKARI; PARVINEN, 1993; BERGDAHL; BERGDAHL, 1999; NETTO *et al.*, 2010), em estudo mais recente de base populacional observou-se prevalência de 0,11% (KOHORST *et al.*, 2015). Esta heterogeneidade deve-se provavelmente à falta de critérios padronizados de diagnóstico (PEREIRA *et al.*, 2020). A SAB acomete principalmente mulheres em uma proporção de 7:1, especialmente, após a 5ª década de vida, nos períodos peri e pós-menopausa (JÄÄSKELÄINEN; WODA, 2017).

Dentre as propostas de classificação da SAB, Lamey e Lewis (1989) a categorizaram, de acordo com os sintomas, em três tipos clínicos: 1) a dor aumenta durante o dia; 2) a dor permanece em um nível constante durante todo o dia; 3) a dor apresenta-se de modo intermitente. Scala *et al.* (2003) classificaram a SAB em primária, como sendo de origem idiopática, e secundária, quando induzida por diversos fatores locais e sistêmicos. Essa última categorização é controversa, uma vez que a SAB não inclui fator causal detectável, sendo a SAB primária aceita como mais adequada a realidade clínica (KLEIN *et al.*, 2020; ŚLEBIODA *et al.*, 2020).

A etiologia da SAB não é claramente compreendida. Alguns estudos associam a sua fisiopatogênese à mecanismos neuropáticos, sugerindo o envolvimento de neuropatia periférica

de pequenas fibras, neuropatia trigeminal e hipofunção da corda do tímpano, associados a mecanismos funcionais do sistema nervoso periférico (SNP) e sistema nervoso central (SNC) (JÄÄSKELÄINEN, 2012; BOUCHER, 2019; KOLKKA *et al.*, 2019; KLEIN *et al.*, 2020).

A desregulação de mediadores inflamatórios no plasma e na saliva de pacientes com SAB, como a expressão aumentada das citocinas pró-inflamatórias IL-8 no plasma (BARRY *et al.*, 2018) e IL-6 na saliva (PEZELJ-RIBARIC *et al.*, 2013), sugere um possível mecanismo neuro-inflamatório. Foi identificado que a saliva de pacientes com SAB apresenta aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) (TVARIJONAVICIUTE *et al.*, 2017), aumento de biomarcadores associados ao estresse emocional, como α -amilase e imunoglobulina A (IgA), além de redução do ácido úrico e da atividade férrica redutora do plasma (FRAP), sugerindo presença de estresse oxidativo na patogênese da SAB (LOPEZ-JORNET *et al.*, 2020).

A associação desses fatores com a deficiência de esteroides neuroprotetores, como a desidroepiandrosterona (DHEA), inerente à menopausa, combinada com a desregulação crônica do estresse, pode contribuir para o desenvolvimento de alterações neurodegenerativas no SNP e SNC (WODA; DAO; GREMEAU-RICHARD, 2009; IMAMURA *et al.*, 2019; PEREIRA *et al.*, 2020). Foi observado em pacientes com SAB uma desnervação das fibras nervosas do nervo corda do tímpano, responsável por inervar os dois terços anteriores da língua, especialmente as papilas fungiformes (MINGUEZ-SANZ; SALORT-LLORCA; SILVESTRE-DONAT, 2011; NASRI-HEIR *et al.*, 2011). Isto pode implicar em uma inervação do sistema sensorial trigeminal alternativa, que resulta em dor ardente ao comer alimentos quentes, promovendo à evolução da sensação de queimação (IMAMURA *et al.*, 2019).

Foi identificado também atrofia de pequenas fibras nervosas no epitélio da língua (LAURIA *et al.*, 2005; PUHAKKA *et al.*, 2016), e aumento da expressão dos receptores de potencial transitório vanilóide tipo 1 (TRPV1) (YILMAZ *et al.*, 2007; BORSANI *et al.*, 2014). Os receptores TRPV1 são canais catiônicos não-seletivo, permeáveis a Ca^{2+} , expresso por neurônios sensoriais aferentes nas terminações nervosas. Estes canais são responsáveis por identificar uma grande variedade de estímulos nocivos, cuja ativação por calor ($>42^{\circ}\text{C}$), substâncias endógenas, como citocinas inflamatórias ou exógenas irritantes como capsaicina, induzem a liberação de neurotransmissores pró-nociceptivos, como o glutamato e substância P (HOLZER, 2008). Os canais TRPV1 participam da transmissão nervosa sensorial na dor neuropática a nível periférico e central (DUX; SANTHA; JANCOSO, 2012; ALAWI *et al.*, 2015), e quando superexpressos podem contribuir para o desenvolvimento da dor (KOLKKA-PALOMAA *et al.*, 2015; RITCHIE; KRAMER, 2018). Além disso, estão envolvidos na modulação do estado emocional relacionado à ansiedade (MOREIRA *et al.*, 2012).

Considerando esses achados, cogita-se a participação dos receptores TRPV1 como um possível alvo terapêutico, para formulação de estratégias no gerenciamento clínico da SAB.

Na SAB, além do TRPV1, foi identificada uma maior expressão do receptor canabinóide CB₂, e diminuição da expressão do receptor canabinóide CB₁, que também podem gerar alterações na percepção da dor (BORSANI *et al.*, 2014). Foi discutida a possível relação entre TRPV1 e o sistema endocanabinóide, tendo em vista que os receptores canabinóides e o TRPV1 apresentam a anandamida como agonista endógeno (SAITO; WOTJAK; MOREIRA, 2010; MOREIRA *et al.*, 2012). Os receptores CB₁ são distribuídos predominantemente nos terminais neuronais em todo o SNC e modulam a neurotransmissão excitatória ou inibitória. Os receptores CB₂ são encontrados principalmente na periferia de células imunes, exercem efeitos analgésico e anti-inflamatório. Na presença de patologias com neuroinflamação, o CB₂ pode ser expresso por células nervosas (MCDONOUGH *et al.*, 2014). A superexpressão de CB₂ é identificada também em doenças neurodegenerativas como Alzheimer e doença de Parkinson, além do câncer (KOMOROWSKA-MÜLLER; SCHMOELE, 2021). Estudos mostram que a ativação de CB₂ induz efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios (KINSEY *et al.*, 2011; BRYK; STAROWICZ, 2021). Os agonistas canabinóides com alvo seletivo para CB₂, estão livres de efeitos psicoativos correlacionados a ativação do CB₁, o que pode constituir um alvo terapêutico relevante no tratamento da dor crônica, inflamatória ou neuropática (MALAN *et al.*, 2003; KOMOROWSKA-MÜLLER; SCHMOELE, 2021). A terapêutica com fitocanabinóides pode ser considerada um tratamento em potencial para SAB (MCDONOUGH *et al.*, 2014; PEREIRA *et al.*, 2020).

O diagnóstico da SAB é baseado em um estudo minucioso da história da doença. O uso de medicamentos, próteses, presença de afecções como candidíase oral e líquen plano, alergias, hábitos parafuncionais e doenças sistêmicas, devem ser revisados para identificar fatores causais locais e/ou sistêmicos que podem induzir a queimação oral. As condições identificadas devem ser tratadas seguindo os protocolos terapêuticos padronizados, caso não haja melhora na queimação oral, por exclusão, é indicado o diagnóstico da SAB (KLEIN *et al.*, 2020; DYM; LIN; THAKKAR, 2020; VAN DER WALL, 2021). Isso torna o diagnóstico complexo e exige muitas vezes uma colaboração interdisciplinar (PEDERSEN, 2021). Pacientes portadores da SAB, apesar de buscarem cuidados profissionais, frequentemente são diagnosticados erroneamente ou não recebem nenhum diagnóstico, levando em média 12 meses para receber o diagnóstico correto, gerando atraso no início do tratamento e possivelmente contribuindo para agravamento da sintomatologia (FREILICH *et al.*, 2020).

O manejo atual da SAB baseia-se no controle da sintomatologia, onde terapias tópicas, sistêmicas e comportamentais vêm sendo aplicadas, com resultados variados (KLEIN *et al.*, 2020). As terapias incluem o emprego do clonazepam, capsaicina, ácido α -lipóico, gabapentina, laserterapia, psicoterapia (PEDERSEN, 2021), uso de pastilhas contendo bupivacaína (TRELDAL *et al.*, 2016) e a aplicação do fitoterápico Catuama® (SPANEMBERG *et al.*, 2012).

Dentre essas opções, o clonazepam representa o principal fármaco empregado no tratamento da SAB (MCMILLAN *et al.*, 2016; JÄÄSKELÄINEN; WODA, 2017; ŚLEBIODA *et al.*, 2020). O mecanismo de ação do clonazepam é exercido por meio da potencialização do efeito neuroinibidor do ácido gama-aminobutírico (GABA). No entanto, foram observadas alterações na configuração do receptor GABA extra-sináptico em pacientes com SAB, especificamente na regulação negativa da subunidade $\alpha 2$ sensível aos benzodiazepínicos, podendo comprometer o mecanismo de ação terapêutica (IMAMURA *et al.*, 2019). Efeitos adversos podem estar associados ao uso prolongado do clonazepam, como sonolência, letargia, xerostomia e distúrbios gastrointestinais (CUI *et al.*, 2016; KUTEN-SHORRER *et al.*, 2017). Foram também observados recorrência da sensação de queimação e o desenvolvimento de dependência medicamentosa (GRUSHKA; EPSTEIN; GORSKY, 2002; HECKMANN *et al.*, 2012).

Considerando que os pacientes com SAB apresentam no epitélio aumento da expressão dos receptores TRPV1 (IMAMURA *et al.*, 2019), a capsaicina tópica também representa uma opção terapêutica. Esta substância pungente induz a dessensibilização dos canais TRPV1, produzindo analgesia (VYKLICKÝ *et al.*, 2008). Todavia, a analgesia é precedida por uma sensação intensa de queimação e disgeusia, que podem potencializar os sintomas da SAB (SILVESTRE *et al.*, 2012). A capsaicina também pode estar associada a efeitos adversos como distúrbios gastrointestinais, náuseas e prurido (JØRGENSE; PEDERSEN, 2016).

O ácido α -lipóico é uma coenzima antioxidante, que vem sendo estudada em aplicação isolada ou em combinação com gabapentina (SÁNCHEZ *et al.*, 2015; PEDERSEN, 2021). A dosagem de ácido α -lipóico varia entre 200 e 800 mg por dia durante 1 a 2 meses. Quando aplicado isolado não foram encontradas diferenças significativas entre o grupo placebo e o grupo teste, em relação à média pontuação de dor, mas foi identificada em relação à melhora geral dos sintomas da SAB (LIU *et al.*, 2018). O efeito terapêutico do ácido α -lipóico frente a sintomatologia da SAB apresentou melhores resultados quando administrado em combinação com o anticonvulsivante gabapentina, ressaltando que o uso de drogas que atuam em diferentes

níveis do sistema nervoso pode ser útil no seu tratamento (LÓPEZ-D'ALESSANDRO; ESCOVICH, 2011).

A terapia de fotobiomodulação é sugerida como um possível tratamento da SAB (SANTOS *et al.*, 2015; SPANEMBERG *et al.*, 2019). A maioria dos estudos é baseada em aplicações de laser de diodo com comprimentos de onda da luz visível (660nm) para o espectro de luz NIR, com um fluxo total de 20 J/cm² por sessão. Os protocolos incluem uma a duas sessões por semana, até 12 semanas de tratamento (MERIGO *et al.*, 2019). O período de tempo prolongado é um fator determinante para a não adesão do paciente ao tratamento, visto que a maioria dos pacientes portadores de SAB apresentam distúrbios psicológicos, cujo tratamento prolongado pode exacerbar a ansiedade do paciente promovendo o agravamento do quadro clínico (TOKURA *et al.*, 2015; REZAZADEHF *et al.*, 2021).

O emprego de pastilhas contendo 5 mg de bupivacaína no tratamento da SAB foi descrita por Tredal e colaboradores (2016). Verificaram redução da queimação oral, mas em contrapartida, houve aumento da alteração da percepção do paladar, e sem impacto positivo ou negativo na xerostomia. Tredal *et al.* (2019) investigaram ainda os perfis inflamatório e neurogênico dos sintomas da SAB, em resposta ao tratamento com as pastilhas contendo anestésico local. Indicando que os pacientes que responderam positivamente ao tratamento provavelmente são portadores de SAB de origem periférica, enquanto o grupo não responsivo ao tratamento presumivelmente apresenta SAB de origem central, está última por sua vez, exibiu níveis elevados de citocinas plasmáticas.

O fitoterápico Catuama® é composto por várias plantas medicinais como a *Paullinia cupana* (guaraná), *Trichilia catigua* (catuaba), *Ptychopetalum olacoides* (muirapuama) e *Zingiber officinale* (gengibre). É geralmente aplicado como estimulante corporal, energético e afrodisíaco (OLIVEIRA *et al.*, 2005). No estudo realizado por Spanemberg *et al.* (2012) identificou-se uma melhora significativa nos sintomas da SAB, após quatro semanas de tratamento com Catuama®. O emprego de várias fontes fitoterápicas aumenta o custo da formulação, além dificultar o mascaramento do sabor amargo, que pode influenciar a não adesão do paciente ao protocolo terapêutico.

A terapia cognitivo comportamental é considerada uma abordagem complementar, que desempenha papel fundamental no gerenciamento emocional dos portadores da SAB, contribuindo para manutenção do tratamento e alcance de melhores resultados clínicos (GALLI *et al.*, 2017; MITSIKOSTA; LJUBISAVLJEVC; DELIGIANN, 2017; TU *et al.*, 2019).

Atualmente, os protocolos aplicados no tratamento da SAB baseiam-se principalmente em experiências clínicas, e estão constantemente associados as reações adversas e restrições

para aplicação (MCMILLAN *et al.*, 2016; TU *et al.*, 2019; BOUCHER, 2019). Devido ao número limitado de ensaios clínicos randomizados e a falta de critérios metodológicos padronizados para o diagnóstico e tratamento da SAB, as evidências se caracterizam insuficientes para apoiar ou refutar o uso de quaisquer intervenção no seu manejo clínico (ŚLEBIODA *et al.*, 2020; PEREIRA *et al.*, 2020; REZAZADEHF *et al.*, 2021). Até o presente momento, não foi identificada nenhuma estratégia de gerenciamento específico para tratamento dos sintomas da SAB.

2.2 *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen

Acmella oleracea (L.) R.K. Jansen pertence à família Asteraceae, tem como sinonímia científica a *Spilanthes acmella* (L.) Murray e é popularmente conhecida como jambu (PRACHAYASITTIKUL, 2009; BORGES; SILVA, 2018). A *A. oleracea* é uma planta nativa da região Amazônica, mas pode ser encontrada nas regiões Norte, Nordeste, Sudeste e Sul do território brasileiro (BRASIL, 2020). Seu cultivo também é relatado na África, Ásia, Índia e Espanha (PRACHAYASITTIKUL *et al.*, 2013; NAVARRO-GONZÁLEZ *et al.*, 2015).

Trata-se de uma planta herbácea perene, semiereta com altura de 20 a 40 cm e ramos decumbentes, carnosos e cilíndricos. As folhas inserem-se no mesmo nó do caule, em lados opostos, apresentam coloração verde-escuro e comprimento de 3 a 6 cm. As inflorescências são pequenos capítulos de coloração amarela e produzem autopolinização (Figura 1). O cultivo da *A. oleracea* em hortas domésticas é comum e pode desenvolver-se sem plantio sistematizado, através da dispersão das sementes pelo vento e animais. É cultivada em clima quente e úmido, com temperatura média de 25°C, umidade relativa de 80% e com alta exigência hídrica (HOMMA *et al.*, 2011; BORGES *et al.*, 2012; GOMES *et al.*, 2020).

Figura 1 - *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen e seus capítulos florais.



A *A. oleracea* foi classificada como uma fonte herbal segura (GRAS n°3783) pela *Flavor and Extract Manufactures Association* (FEMA). A mastigação dos seus capítulos florais e folhas desencadeiam sensação de dormência e aumento da salivação, o que revela o seu potencial sensorial, e emprego como flavorizante (FEMA, 2000). O extrato das flores da *A. oleracea* inibiu o crescimento da *Salmonella typhi*, em uma concentração inibitória mínima (CIM) de 31,25 µg/mL (ALCANTARA *et al.*, 2015), impulsionando a sua aplicação no controle de qualidade de formulações no campo das indústrias alimentícia, farmacêutica e nutracêutica.

No Brasil, a *A. oleracea* faz parte do grupo de Plantas Alimentícias Não-Convencionais (PANCs), plantas com partes comestíveis com segurança reconhecida e que geralmente não são aplicadas na dieta habitual (KINUPP; LORENZI, 2014; TOMCHINSKY; MING, 2019). Na região Norte do país é amplamente utilizada na culinária em pratos típicos como “tacacá” e “pato no tucupi”, entre outras preparações, como saladas *in natura* e bebidas (BORGES; SILVA, 2018; GOMES *et al.*, 2020). Segundo dados do IBGE (1981), a composição nutricional em 100g da matéria integral de *A. oleracea*, corresponde a 32 kcal; 89 g de água; 1,9 g de proteínas; 0,3 g de lipídeos; 7,2 g de carboidratos; 1,3 g de fibras e 1,6 g de cinzas. Os micronutrientes identificados são representados pela vitamina B1 (0,03 mg/100g), vitamina B2 (0,21 mg/100g), vitamina B3 (1 mg/100g), vitamina C (20 mg/100g), fósforo (41 mg/100g), cálcio (162 mg/100g), e ferro (4 mg/100g). Existem várias possibilidades de aplicação da *A. oleracea*, nas indústrias alimentícias e farmacêuticas, devido às suas características potenciais de vitaminas, cálcio, ferro, que podem ser benéficas a saúde humana (SANTOS *et al.*, 2019).

Além da sua aplicação como fonte alimentar, a *A. oleracea*, também é aplicada na medicina tradicional, no tratamento de tuberculose, anemia, dores de dente e afecções na garganta (LORENZI; MATOS, 2008; BORGES *et al.*, 2012). De acordo com a literatura científica, a *A. oleracea* detém várias biopropriedades, como efeito anestésico (CHAKRABORTY *et al.*, 2010); antinociceptivo (NOMURA *et al.*, 2013; DALLAZEN *et al.*, 2018; RONDANELLI *et al.*, 2020); antioxidante (ABEYSIRI *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2021; NASCIMENTO *et al.*, 2020); neuroprotetor (SUWANJANG *et al.*, 2017); sialagogo (LEY *et al.*, 2006; DUBEY *et al.*, 2013); gastroprotetor (MARIA-FERREIRA *et al.*, 2014); afrodisíaco feminino (REGADAS, 2008); antimicrobiano (ALCANTARA *et al.*, 2015) e anti-inflamatório (HUANG *et al.*, 2018; DALLAZEN *et al.*, 2019; STEIN *et al.*, 2021).

Essas bioatividades são provenientes de diferentes grupos de compostos encontrados no extrato da *A. oleracea*, como compostos fenólicos, fitoesteróis, polissacarídeos, cumarina e as alquilamidas (grupo majoritário) (ABEYSIRI *et al.*, 2013; NASCIMENTO *et al.*, 2013; STEIN *et al.*, 2021; NASCIMENTO *et al.*, 2020).

Dentre as alquilamidas destaca-se o N-isobutil-2-E, 6-Z, 8-E-decatrienamida, conhecido como espilantol ou afinina. Representa uma molécula bioativa anfipática, capaz de interagir com meios polares e apolares, formando complexos mais estáveis (MOLINATORRES *et al.*, 1996; PRACHAYASITTUKAL *et al.*, 2009). Exerce um amplo espectro de atividades biológicas, como antinociceptiva, anestésica, anti-inflamatória, neuroprotetora, sialagoga, moduladora de respostas gustativas, além de produzir um sabor refrescante (DUBEY *et al.* 2013; XU *et al.*, 2019; RONDANELLI *et al.*, 2020). O espilantol é encontrado em maiores concentrações nos capítulos florais (CHENG *et al.*, 2015). É um composto com elevado valor comercial, cerca de \$7, 000.00 por 25 mg (SCB, 2021), e pode ser encontrado em várias fontes vegetais, além da *Acmella oleracea*, como na *A. ciliate*, *A. oppositifolia*, *A. radicans*, *A. uliginosa*, *Welelia parviceps* e *Heliopsis longipes* (PRACHAYASITTUKAL *et al.*, 2013).

O espilantol aumenta a sensibilidade aos sais de sódio nas células gustativas e possivelmente ativa as terminações nervosas trigêminais. O efeito psicofísico do espilantol pode estar associado ao mecanismo de inibição dos canais iônicos TASK-1 e/ou K_{2P} , resultando no aprimoramento das respostas gustativas (XU *et al.*, 2019). Isto aponta para uma possível aplicação da *A. oleracea* como agente terapêutico no gerenciamento de doenças que alteram o paladar, como por exemplo, a Covid-19, cujos pacientes relatam frequentemente distúrbios no paladar (LUETHGEN *et al.*, 2020).

Freitas-Blanco *et al.* (2016) analisaram a capacidade do espilantol em permear a mucosa e a derme em modelos experimentais com célula vertical do tipo Franz. Observaram melhor desempenho quando o extrato etanólico das partes aéreas de *A. oleracea* foi previamente tratado com 4% de carvão ativo, por proporcionar aumento relativo no teor de espilantol. Em outro estudo, verificou-se que o espilantol facilita a permeabilidade de outros compostos ou medicamentos (DE SPIEGELEER *et al.*, 2013).

É possível que o espilantol tenha efeitos importantes sobre o sistema nervoso central (SNC), em função da sua capacidade de atravessar barreiras fisiológicas, com atividade antinociceptiva, antioxidante e neuroprotetora (VERYSER *et al.*, 2014). As alquilamidas são consideradas fitocanabinoides, por apresentar semelhança estrutural com a anandamida, um ligante endógeno dos receptores canabinoides (WOELKART; OUTI; BAUER, 2008). Foi evidenciado que as alquilamidas da *Echinacea angustifolia* ligaram-se preferencialmente ao receptor CB₂ (WOELKART *et al.*, 2005; WOELKART; BAUER, 2007). Os agonistas seletivos de CB₂ inibem a dor inflamatória e neuropática, sem a indução dos efeitos adversos causados pela ativação de CB₁ (GUINDON; HOHMANN, 2008).

Rios e colaboradores (2007) relataram que o efeito analgésico do espilantol pode está correlacionado ao aumento da liberação do ácido gama-aminobutírico (GABA) pelo córtex cerebral, tendo em vista a sua ação inibitória pré-sináptica de neurotransmissores pró-nociceptivo, tais como o glutamato e substância P. Cilia-López *et al.* (2010) identificaram elevada expressão gênica dos receptores do GABA, após 0,5 minutos da administração de 1×10^{-4} M de espilantol, e efeito estimulante no SNC de camundongos adultos similar ao desempenhado pela cafeína.

Nomura e colaboradores (2013) identificaram atividade antinociceptiva orofacial, em camundongos, do extrato etanólico das flores frescas da *A. oleracea*, nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg, por via intraperitoneal. A capsaicina e o cinamaldeído foram aplicados para verificar o efeito nociceptivo provocado por ação nos receptores de calor e frio, respectivamente. Observou-se redução na nocicepção em todos os camundongos testados, sugerindo que o mecanismo de ação está associado ao bloqueio dos receptores de potencial transitório TRPV1 e TRPA1.

Dallazen *et al.* (2018) descreveram que a injeção intraplantar de 0,1 µg da fração hexânica rica alquilamidas das flores da *A. oleracea*, produziu efeitos antinociceptivos em camundongos, inibindo comportamentos de dor induzida por formalina nas fases neurogênica e inflamatória. Por outro lado, concentrações maiores (30 µg) induziram efeitos pronociceptivos, propondo que as variações moleculares das alquilamidas presentes na fração hexânica poderiam interagir de forma distintas com os receptores alvo da dor, resultando em diferentes padrões farmacológicos de efeito (DALLAZEN *et al.*, 2018). Isto reforça a necessidade de investigações *in silico*, em comparação com experimentos tradicionais as técnicas de modelagem molecular são capazes de revelar os detalhes atômicos das interações droga-receptor, direcionamento o design racional de formulações (BEIHONG *et al.*, 2020).

É possível que o espilantol atue como agonista parcial dos canais TRPV1, promovendo a antinocicepção (DALLAZEN *et al.*, 2018). Foi observado que a administração local de espilantol, nas concentrações de 1 a 30 µg, reduz a dor orofacial. O efeito máximo antinociceptivo foi observado na maior dose, sem nenhum sinal de comportamentos do tipo nociceptivo (DE LA ROSA-LUGO *et al.*, 2017).

A modulação dos canais TRPV1 exerce proteção contra o estresse oxidativo, lesão celular e demência (GUPTA *et al.* 2014; JAYANT; SHARMA; SHARMA, 2016). Gonçalves *et al.* (2021) descreveram efeito neuroprotetor frente a doença neurodegenerativa em modelo de camundongo, havendo reversão do déficit de memória e estresse oxidativo, através da administração por via oral do extrato etanólico de *Acmella ciliata* (50-150 mg/kg) e espilantol

(10 mg/kg), relacionando esses efeitos a modulação positiva dos canais TRPV1. Além disso, foi observado que as alquilamidas das flores de *A. oleracea* promovem a manutenção dos níveis basais de IL-10, responsável por inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias e induzir a expressão da heme oxigenase-1 (HO-1), uma proteína de resposta antioxidante (DALLAZEN *et al.*, 2019).

Rondanelli e colaboradores (2020) descrevem a capacidade do espilantol em reduzir a expressão de vários mediadores pró-inflamatórios, como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , além de regular negativamente a expressão de iNOS e COX-2, provavelmente por meio da redução da ativação de fatores de transcrição da família do fator nuclear- κ B (NF- κ B). Stein *et al.* (2021) sugerem que a atividade anti-inflamatória observada nos extratos etanólicos das flores de *A. oleracea* pode contribuir para a manutenção das defesas antioxidantes, reduzindo o estresse oxidativo e consequente injúria celular.

Chakraborty *et al.* (2004) não identificaram qualquer efeito adverso ou mortalidade em ratos, na dose máxima de 3000 mg/kg, por via oral, de extrato aquoso das partes aéreas da *A. oleracea*. O extrato etanólico das flores da *A. oleracea* mostrou-se seguro nas doses de 2000 mg/kg, por via oral, em ratos, (SHARMA *et al.*, 2011) e de 5, 50 e 500 mg/kg, por via intraperitoneal, em camundongos, sem ocorrências de mortes ou sintomas de toxicidade, pelo período de 7 dias de observação (NOMURA *et al.*, 2013). De Souza *et al.* (2019) avaliaram a toxicidade aguda, por via oral, do extrato hidroetanólico das flores de *A. oleracea* em modelo de peixe-zebra (*Danio rerio*), observando um comportamento dose dependente, apresentando as doses de 88.91, 199.53 e 281.83 mg/kg, efeito tóxico para o fígado, intestino e rins. No entanto, em estudo mais recente não foi identificada toxicidade hepática ou renal na administração de extrato etanólico das flores de *A. oleracea* (10-100 mg/mL) ou espilantol (6,2 mg/mL), em modelo de ratos (STEIN *et al.*, 2021).

A *A. oleracea* pode constituir uma fonte de fitoconstituintes para o desenvolvimento de possíveis formulações indicadas para o controle da dor, principalmente em doenças crônicas (RONDANELLI *et al.*, 2020).

2.3 Nutracêuticos

O termo nutracêutico foi criado por Stephen L. DeFelice, em 1989, nos Estados Unidos, e representa a união dos termos nutrição e farmacêutico. Os nutracêuticos são substâncias bioativas obtidas de uma matriz alimentar, em uma forma purificada ou de extratos, e administradas por via oral, em dosagens que excedem aquelas obtidas em um alimento *in natura*

(DEFELICE, 1995; ISKANDAR *et al.*, 2020). Oferecem efeitos fisiológicos benéficos a saúde e bem-estar, incluindo a prevenção e/ou tratamento de doenças (DEFELICE, 1995).

O envelhecimento da população e o aumento de doenças crônicas exigem o desenvolvimento de alternativas terapêuticas que promovam a manutenção da saúde e qualidade de vida. Os nutracêuticos é um campo terapêutico em ascensão global, com uma taxa de previsão de crescimento anual de 7,04% entre 2016 e 2022 (PRASAD, 2016; BORODINA *et al.*, 2020).

No Brasil, os nutracêuticos são descritos como uma substância de ocorrência natural, com efeito benéfico à saúde, como ingredientes de alimentos específicos, alimentos funcionais ou suplementos alimentares, projetados pela indústria farmacêutica ou alimentícia. Existem em formas variadas de apresentação, como: cápsulas, tabletes, cereais, sopas, bebidas entre outros, aumentando a aceitabilidade do paciente (GOMES; MAGNUS; SOUZA, 2017). A regulamentação dos nutracêuticos no Brasil não é específica. Está amparada pela legislação de alimentos funcionais, que estabelece as alegações de procedimentos para registro de alimento, com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde (BRASIL, 1999; GOMES; MAGNUS; SOUZA, 2017).

De acordo com a Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), alegação de propriedade funcional é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e em outras funções normais do organismo humano. A alegação de propriedade de saúde é aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento ou ingrediente no tratamento de doenças. Estas declarações de rotulagens podem se referir às substâncias bioativas, como carotenóides; fitoesteróis; flavonóides; fosfolipídeos; organosulfurados; polifenóis; probióticos, entre outros, desde que, precedido da prévia aprovação e comprovação científica (BRASIL, 1999; STRINGHETA *et al.*, 2007; GOMES; MAGNUS; SOUZA, 2017).

Os "nutracêuticos" apresentam competências e finalidades distintas dos "alimentos funcionais" (ARONSON, 2016). Os nutracêuticos constituem formulações com compostos bioativos concentrados oriundos de uma fonte alimentar, com atividade terapêutica comprovada na prevenção e/ou tratamento de doenças. Os alimentos funcionais são caracterizados por alimentos que podem fornecer benefício a saúde, através da presença de substâncias em concentrações relativamente baixas, normalmente consumidas na dieta regular (JONES; CABALLERO; DAVIDOV-PARDO, 2019; BORODINA *et al.*, 2020).

Os nutracêuticos podem ser representados pelos peptídeos, compostos fenólicos, flavonoides, carotenóides, lipídios, minerais, vitaminas, aminoácidos, antioxidantes e extratos vegetais (SAMARANAYAKA; LI-CHAN, 2011; GONÇALVES *et al.*, 2018; JONES; CABALLERO; DAVIDOV-PARDO, 2019). Entre os seus benefícios relatados na literatura estão a prevenção de doenças neurodegenerativas e câncer, em função de suas propriedades antioxidantes, antiproliferativa, anti-inflamatória, antimutagênica, antimicrobiana, entre outras (NILE; PARK, 2014; GONÇALVES *et al.*, 2018).

Os extratos vegetais geralmente são liofilizados após a extração da fonte alimentar e posteriormente adicionados em concentrações pré-determinadas em formulações nutracêuticas (LEENA *et al.*, 2020). Os compostos bioativos, normalmente, são solúveis e sensíveis a luz, calor e oxigênio, necessitando de um sistema carreador biocompatível, que exerça proteção contra degradação das moléculas bioativas, durante o processamento e armazenamento (AUGUSTIN; SANGUANSRI, 2015; GERARDI *et al.*, 2016). As unidades de entrega mastigáveis à base de gelatina configuram-se como uma alternativa viável, aprimorando a biodisponibilidade (AUGUSTIN; SANGUANSRI, 2012; DILLE; DRAGET; HATTREM, 2018). As formulações nutracêuticas incorporadas com fitoterápicos conduzem um campo de pesquisa científica, voltada para promoção de saúde e qualidade de vida (ISKANDAR *et al.*, 2020).

As unidades de entrega mastigáveis geralmente são produzidas à base de gelatina, constituindo um mecanismo de entrega comum para os nutracêuticos. As partículas de gelatina liberam os bioativos na cavidade oral, durante o processo de mastigação, produzindo partículas menores que serão conduzidas para o sistema gastrointestinal. Dentre as vantagens, destaca-se o aumento do tempo de retenção da forma de dosagem na cavidade oral e aumento na biodisponibilidade. As unidades de entrega podem ser adotadas para uso local e sistêmico e permitem a incorporação de vários ingredientes ativos (DILLE; DRAGET; HATTREM, 2018; LEENA *et al.*, 2020).

A matriz polimérica de gelatina confere uma rede tridimensional, que armazena e protege o composto bioativo. Quando a solução aquosa de gelatina é resfriada, regiões ricas em aminoácidos proporcionam zonas de união, formando uma rede tridimensional biocompatível, ideal para carreamento de substâncias. Os géis de gelatina apresentam temperatura de transição próximas as condições fisiológicas humanas, otimizando a dissolução das unidades de entrega na cavidade oral e trato gastrointestinal (MARFIL; ANHÊ; TELIS, 2012; DILLE; DRAGET; HATTREM, 2015; LEENA *et al.*, 2019; MAVIAH *et al.*, 2020). A incorporação de substâncias bioativas em uma matriz de gel à base de gelatina, pode ser desenvolvido através de três

principais sistemas: a) ingrediente ativo suspenso como partículas sólidas em toda a matriz gelificada; b) dissolvido na fase aquosa da matriz de gel; e c) dispersos como gotículas de emulsão à base de lipídios, que são suspensos por toda a matriz de gel (DILLE; DRAGET; HATTREM, 2018).

As unidades de entrega mastigáveis apresentam facilidade de administração em comparação com comprimidos e cápsulas, tornando-as uma alternativa viável, principalmente em grupos de pacientes pediátricos e geriátricos, e que sofrem de disfagia (DILLE; DRAGET; HATTREM, 2017; PALUMBO *et al.*, 2019).

O desenvolvimento de uma forma de administração, com apresentação semelhante a pastilhas, confere atributos importantes para a melhor aceitação e manutenção do tratamento pelo paciente, em virtude da sua popularidade e propriedades organolépticas atrativas (MARFIL; ANHÊ; TELIS, 2012; USHIKOSHI-NAKAYAMA *et al.*, 2019; ČIŽAUSKAITĖ *et al.*, 2019). Os pacientes com SAB, geralmente apresentam baixa adesão ao tratamento (KIM; KHO, 2018). Sendo assim, esta forma de apresentação pode ser uma alternativa atrativa, contribuindo para adesão do paciente ao tratamento.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Caracterizar o perfil fitoquímico do extrato tratado de *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen e desenvolver uma unidade de entrega nutracêutica, para o tratamento sintomático da síndrome da ardência bucal (SAB).

3.2 Objetivos específicos

- Identificar o perfil fitoquímico do extrato etanólico bruto tratado (EEBT) das flores de *A. oleracea* através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplado a Espectrometria de Massas (EM) com Ionização por Eletrospray (IES);
- Obter padrão analítico através do desenvolvimento de um método de isolamento do composto espilantol a partir do EEBT, por CLAE-DAD e identificá-lo por Ressonância Magnética Nuclear (RMN);
- Empregar o espilantol isolado como padrão analítico para processo de quantificação;
- Desenvolver um método de quantificação do composto espilantol através de CLAE-DAD;
- Avaliar o teor de espilantol no extrato etanólico bruto (EEB) das flores de *A. oleracea* e no extrato etanólico bruto tratado com carvão ativo (EEBT);
- Investigar através de docking molecular a interação do espilantol e alquilamidas identificadas no extrato EEBT com os receptores TRPV1 e CB2;
- Incorporar o EEBT de *A. oleracea* em uma unidade de entrega.

4 MATERIAIS E METÓDOS

4.1 Caracterização metodológica do estudo

Trata-se de um estudo experimental *in vitro* e *in silico*, buscando analisar o perfil fitoquímico do extrato tratado de *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen e aplicando-o no desenvolvimento de uma unidade de entrega mastigável à base de gelatina. Foi desenvolvido no Laboratório de Análises e Diagnóstico (LAD), localizado no departamento de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campina Grande-PB. As análises fitoquímicas foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises (LMCA) localizado na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa-PB. Este projeto foi previamente cadastrado no SisGen sob registro nº A50D74B.

4.2 Material vegetal

Amostras das flores de *A. oleracea* (Figura 2) foram coletadas em novembro de 2020, na região semiárida da Paraíba, localizada na cidade de Nova Olinda (7° 28'38.3 "S / 38° 02'29.4 "W). Uma exsicata da espécie foi depositada no herbário Manoel Arruda Câmara (HACAM) da UEPB, sob o número de identificação 1929.

Figura 2 - Capítulos florais e folhas de *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen.



4.3 Extrato etanólico bruto (EEB)

O EEB foi obtido a partir dos capítulos florais frescos da *A. oleracea*, por maceração em etanol 95° GL (1:4, p/v). A cada 48 horas foi realizada a filtração e troca do solvente. Este processo de extração foi repetido três vezes e a tintura filtrada foi mantida em freezer a -20°C até a última extração. Foi realizada a remoção do solvente por rotaevaporação à vácuo (TE-211, TE-058-Tecnal®), seguida de liofilização (Alpha 1-2 LDplus-Christ®), para obtenção da massa seca, utilizada para calcular o rendimento (RODRIGUES *et al.*, 2011) (Figura 3).

Figura 3 - Ilustração do processo de obtenção do extrato etanólico bruto.



4.4 Extrato etanólico bruto tratado com carvão ativo (EEBT)

O EEB foi tratado com carvão ativo, seguindo metodologia descrita por Freitas-Blanco *et al.* (2016), com algumas modificações. A tintura do extrato bruto foi adicionada em balão de fundo redondo com 4% (p/v) de carvão ativo granular (Dinâmica®), e submetido a banho aquecido à 40 °C, sob agitação por 30 minutos. Após esse período, foi realizada a filtração a vácuo em funil de placa porosa com terra diatomácea (Celite 545- Dinâmica®). O extrato foi concentrado à vácuo (TE-211, TE-058-Tecnal®) e liofilizado (Alpha 1-2 LDplus-Christ®), para obtenção da massa seca, utilizada para calcular o rendimento (RODRIGUES *et al.*, 2011) (Figura 4).

Figura 4 - Ilustração do processo de tratamento do extrato etanólico bruto com carvão ativo.



Fonte: Adaptado de FREITAS-BLANCO et al. 2016.

4.5 Análise do perfil fitoquímico por CLAE- EMⁿ- IES

O EEBT das flores de *A. oleracea* foi analisado por CLAE (Shimadzu®), utilizando coluna cromatográfica analítica C18 (Kromasil® - 250 mm x 4,6 mm x 5 µm), acoplado a espectrômetro de massas (Bruker® - Ion-Trap AmazonX), com Ionização por Electrospray (IES).

Para realização da análise, a amostra foi solubilizada em metanol (1mg/mL), com posterior filtração em filtros PVDF (Fluoreto de Polivinilideno), com malha de 0,45 µm. O método cromatográfico desenvolvido utilizou os solventes metanol (solvente B) de grau cromatográfico e água ultrapura tipo I (Mili-Q), acidificada com ácido fórmico (0,1% v/v) (solvente A), com análise em gradiente de concentração (5 a 100% de B em 95 minutos). O volume de injeção foi de 10 µL e taxa de fluxo foi de 0,6 mL/minuto. No espectrômetro de massas, as amostras foram submetidas a uma fragmentação sequencial em EM⁴. Os parâmetros utilizados foram: capilar 4,5 kV, offset da placa final 500 V, gás nebulizador 4 bar, gás seco (N₂) com fluxo de 8 mL/minuto e temperatura de 200 °C. A amostra foi analisada no modo de ionização positivo e negativo, a tentativa de identificação dos compostos foi baseada nos dados (EMⁿ) reportados pela literatura.

4.6 Isolamento e identificação de espilantol

4.6.1 Isolamento por CLAE-DAD

O processo de isolamento do espilantol foi necessário em função da necessidade de um padrão analítico para o desenvolvimento da quantificação, tendo em vista que empresas globais de fornecimento de padrões analíticos com grau de pureza certificado, como a Sigma-Aldrich, não comercializam padrão de espilantol. Assim, foi realizado o fracionamento cromatográfico

do EEBT das flores de *A. oleracea* em CLAE preparativa (YMC-Actus Triart C18, com 5 µm de tamanho de partícula e dimensão de 250 x 20 mm), utilizando os solventes metanol (solvente B) de grau cromatográfico (Biograde®) e água ultrapura tipo I (Mili-Q) (solvente A). A análise foi realizada em sistema gradiente de concentração, com 70 a 75% de B em 35 minutos e 75% a 100% em 5 minutos, com volume de injeção de 200 µL, taxa de fluxo de 8 mL/min e comprimento de onda de 230 nm. Obtendo a subfração T-1 e esta foi submetida a RMN.

4.6.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN foram obtidos no espectrômetro (Varian®), operando a 500 MHz para RMN de ^1H e 125 MHz para RMN de ^{13}C . A subfração T-1 foi solubilizada em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz, as multiplicidades no espectro de RMN de ^1H foram indicadas segundo as convenções: sl (simpleto largo), d (dubleto), t (tripeto), dd (duplo dubleto), dt (duplo triplete), dq (duplo quarteto) e m (multipeto). Os dados de RMN obtidos para a subfração-T1 foram comparados com os dados descritos na literatura (NAKATANI; NAGASHIMA, 1992).

4.7 Quantificação do espilantol

Para total separação do marcador analisado em relação aos demais compostos presentes nas amostras, um método cromatográfico foi desenvolvido utilizando metanol (solvente B) de grau cromatográfico (Biograde®) e água ultrapura tipo I (Mili-Q) (solvente A). O método desenvolvido foi composto por 68% de metanol por 35 minutos, 68%-100% em 5 minutos, 100% por 15 minutos, 100%-68% em 5 minutos e 68% por 5 minutos.

4.7.1 Preparação da curva analítica

4.7.1.1 Solução estoque de espilantol

A solução estoque foi preparada com 5 mg do padrão espilantol em 5 mL de metanol, concentração final de 1mg/mL.

4.7.1.2 Preparação das soluções da curva analítica para o EEB

As soluções para cada concentração foram realizadas em triplicata. A solução 1B foi preparada através da transferência de 150 µL da solução estoque para um balão volumétrico de 5 mL, cujo volume foi completado com metanol, produzindo uma solução com concentração de 50 µg/mL. A solução 2B foi produzida utilizando 4 mL da solução 1B e completando para o volume de 5 mL, perfazendo uma solução com concentração de 40 µg/mL. A solução 3B foi preparada com 3,75 mL da solução 2B e aferindo o volume final com metanol para 5 mL, produzindo uma solução com 30 µg/mL. A solução 4B foi constituída por 3,33 mL da solução 3B e volume final de 5 mL de metanol, com concentração final de 20 µg/mL. A solução 5B foi produzida utilizando 2,5 mL da solução 4B e completando o volume com metanol, obtendo assim uma solução com 10 µg/mL.

4.7.1.3 Preparação das soluções da curva analítica para o EEBT

As soluções para cada concentração foram realizadas em triplicata. A partir da solução estoque de padrão, uma solução de 175 µg/mL (solução 1T) foi produzida utilizando 875 µL da solução padrão em balão volumétrico de 5 mL, com volume final obtido utilizando metanol. A solução 2T foi preparada com 4,18 mL da solução 1T com volume final de 5 mL ajustado com metanol, obtendo uma concentração de 150 µg/mL. A solução com 125 µg/mL (solução 3T) foi realizada através de 4,16 mL da solução 2T e volume final de 5 mL produzido pela adição de metanol. A solução 4T foi obtida utilizando 4 mL da solução 3T, e volume final de 5 mL com o uso de metanol, proporcionando uma concentração de 100 µg/mL. A solução 5T (50 µg/mL) foi produzida com 2,5 mL da solução 4T e volume final de 5 mL ajustado com metanol.

4.7.2 Análises estatísticas

A análise estatística foi realizada por comparação estabelecida através da análise de Variância (ANOVA one way), onde os resultados foram considerados estatisticamente diferentes quando $p < 0,05$, o nível de significância adotado foi de 95%. O teste t foi utilizado para analisar a diferença estatística da quantificação entre as amostras de EEB e EEBT. O software empregado foi Microsoft Excel.

4.8 Docking molecular

As duas proteínas envolvidas na patogênese da SAB foram obtidas no Protein Data Bank (PDB, www.rcsb.org) (BERMAN *et al.* 2000), o receptor TRPV1 (PDB ID 5IRX 2, ligante agonista resiniferatoxina)(GAO *et al.*, 2016) e o receptor CB2 (PDB ID 6PTO 3, ligante agonista WIN 55,212-2)(XING *et al.*, 2020).

As nove alquilamidas isoladas neste estudo foram submetidas a docking molecular utilizando o Molegro Virtual Docker, versão 6.0.1 (MVD). Todas as moléculas de água foram mantidas para realizar o docking e as estruturas de enzima e composto foram preparadas usando as mesmas configurações de parâmetro padrão no mesmo pacote de software (avaliação de ligante: ES interno, H-Bond interno, torções Sp2-Sp2, todos verificados; número de execuções: 10 execuções; algoritmo: MolDock SE; interações máximas: 1.500; Tamanho máximo da população: 50; Etapas máximas: 300; fator de distância do vizinho: 1,00; Número máximo de poses retornadas: 5). O docking foi realizado utilizando um GRID de 12 Å de raio e 0,30 de resolução para cobrir o local de ligação do ligante de ambos os arquivos PDB. O RMSD (Root-Mean-Square Distance) para comparar a distância média entre o ligante cristalizado e o ligante submetido ao docking molecular, onde um RMSD de até 2,0 Å o docking pode ser considerado válido (ONODERA; SATOU; HIROTA, 2007)

Os modelos com características esperadas como relevantes para a ligação do ligante extraídos para ambos os ligantes foram gerados para realizar o docking. O algoritmo de pontuação de Moldock foi usado como a função de pontuação e o algoritmo de pesquisa de Moldock também foi aplicado (THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006).

4.9 Produção das unidades de entrega mastigáveis

Os ingredientes empregados na formulação foram gelatina, pectina, sorbitol, xilitol, ácido cítrico e corante alimentício. O EEBT de *A. oleracea* foi selecionado para incorporação na formulação da unidade de entrega mastigável. Foram desenvolvidos ensaios preliminares para determinação das concentrações adequadas de cada componente. As concentrações dos componentes utilizados na formulação das unidades de entrega mastigáveis não serão divulgadas ainda, em função da requisição de registro de patente, junto à INOVATEC.

As unidades de entrega mastigáveis foram obtidas a partir da hidratação da gelatina em um becker, realizada a temperatura ambiente ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) por um período de 15 a 30 minutos, em

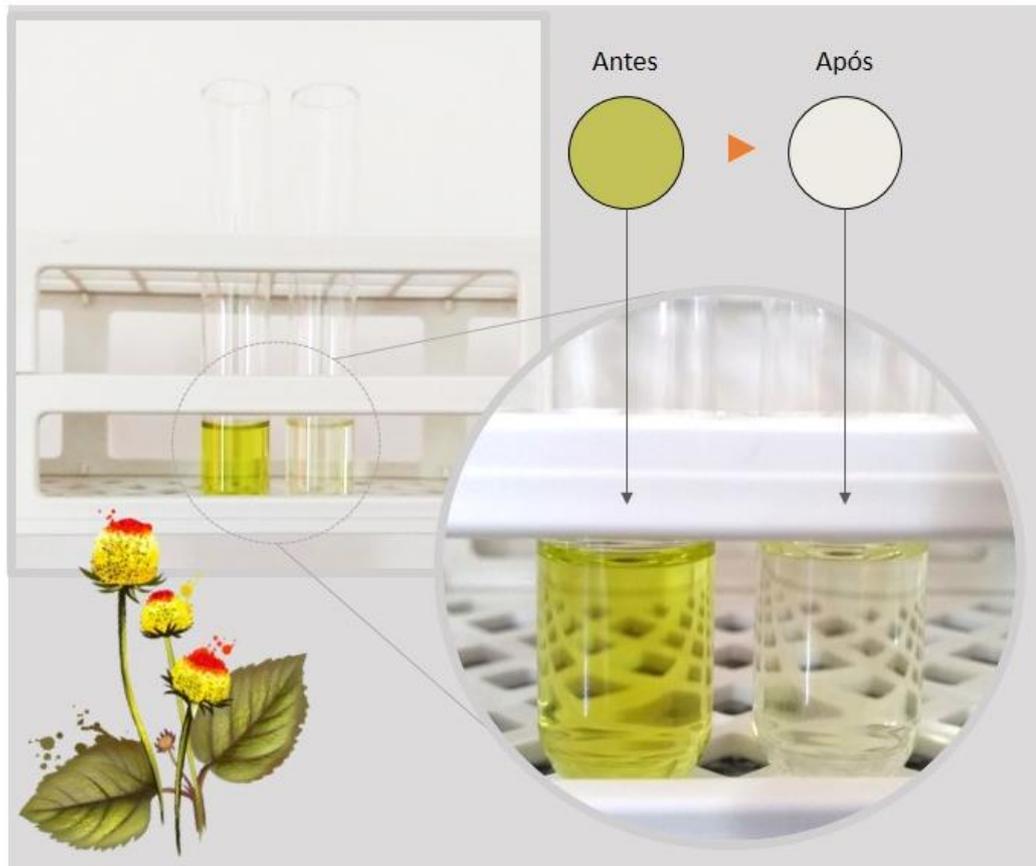
seguida foram adicionados a pectina, sorbitol e xilitol de forma gradual, homogeneizando-os com auxílio de um bastão de vidro, sob aquecimento em banho-maria (70°C). Ao atingir a temperatura de 55° C, foram adicionados o ácido cítrico e corante, homogeneizando por 5 minutos. A matriz de gel permaneceu em banho-maria atingindo temperatura de 40° C, o EEBT foi diluído em água destilada (qsp) e adicionado a matriz gelatinosa, a formulação foi novamente homogeneizada, até a obtenção de um líquido viscoso e homogêneo. A formulação foi transferida para os moldes e permaneceu nos moldes selados, por um período até 24 horas, em temperatura ambiente (22±2°C). Após este período, as unidades de entrega foram removidas dos moldes e armazenadas em embalagens com fechamento hermético.

5 RESULTADOS

5.1 Rendimento do EEB e EEBT

O rendimento obtido para o EEB foi de 9.4%, exibindo coloração verde musgo e forte odor característico. Em comparação, o EEBT apresentou menor rendimento de 5.2%, provavelmente em função da remoção dos pigmentos, em especial da clorofila (Figura 5), observou-se após a liofilização coloração amarelada e ausência de forte odor característico. Ambos os EEB e EEBT, apresentaram consistência pastosa.

Figura 5 - Pigmentação da tintura do extrato etanólico bruto das flores de *A. oleracea*, antes e após o tratamento com 4% de carvão ativo.



5.2 Análise do perfil fitoquímico

A análise do perfil fitoquímico do EEBT exibiu uma diversidade de compostos, incluindo alquilamidas, especialmente o espilantol, compostos fenólicos, como derivados de quercetina e camferol (Tabela 1).

Tabela 1- Caracterização dos compostos presentes no extrato tratado de *A. oleracea* por CLAE- EMⁿ-IES.

Pico	T.R	[M-H] ⁻	EM ⁿ m/z	Composto	Referências
1	42,3	625	EM ² [625]: 463, 301, 300 EM ³ [625→300]: 273, 257, 229, 151	Quercetina- <i>O</i> -dihexosídeo	Bonaccorsi <i>et al.</i> , 2005; Gonzales <i>et al.</i> , 2015
2	45,9	609	EM ² [609]: 447, 285, 284 EM ³ [739→284]: 257, 243, 229, 213, 151	Camferol- <i>O</i> -dihexosídeo	Barros <i>et al.</i> , 2011; Gonzales <i>et al.</i> , 2015
3	46,2	755	EM ² [755]: 609, 301 EM ³ [755→609]: 301 EM ⁴ [755→609→301]: 271, 272, 256, 179, 151	Quercetina- <i>O</i> -deoxihexosídeo- <i>O</i> -rutinosídeo	Llorent-Martínez <i>et al.</i> , 2016; Pianoski <i>et al.</i> , 2020
4	50,1	463	EM ² [463]: 343, 301, 300 EM ³ [463→301]: 273, 257, 229, 179, 151	Quercetina-3- <i>O</i> -hexosídeo	Wang <i>et al.</i> , 2015
5	50,6	609	EM ² [609]: 301 EM ³ [609→301]: 273, 257, 229, 179, 151	Rutina	Simirgiotis <i>et al.</i> , 2015; Wang <i>et al.</i> , 2015
6	53,5	593	EM ² [593]: 447, 285, 284 EM ³ [593→285]: 257, 241, 229, 213, 151	Camferol-3- <i>O</i> -rutinosídeo	Fabre <i>et al.</i> , 2001; Zhou <i>et al.</i> , 2018
Pico	T.R	[M+H] ⁺	EM ⁿ m/z	Composto	Referências
7	64,6	204	EM ² [204]: 176, 148, 131, 105,103	(2Z)-N-isobutil-2- nonen-6,8-diinamida	Boonen <i>et al.</i> , 2010
8	66,4	268	EM ² [204]: 240, 222, 195, 148, 121, 105, 103	N-feniletil -2,3- epoxi-6,8-nonadiinamida	Boonen <i>et al.</i> , 2010
9	69,1	230	EM ² [230]: 202, 188, 174; 157; 146; 131, 129; 91;	(2E,4Z)-N-isobutil-2,4-undecadieno-8,10-diinamida	Boonen <i>et al.</i> , 2010

10	71,2	232	EM ² [232]: 204, 176, 159, 133, 131, 105, 91	(2E)-N-isobutil-2- undeceno-8,10- diinamida	Boonen <i>et al.</i> , 2010
11	75,2	246	EM ² [246]: 218, 176, 159, 133, 131, 105, 91	(2E)-N-(2-metilbutil)-2- undeceno-8,10- diinamida	Boonen <i>et al.</i> , 2010
12	76,1	258	EM ² [258]: 230, 202, 185, 157, 131, 117, 105	(2E,7Z)-N-isobutil-2,7- tridecadieno-10,12-diinamida	Boonen <i>et al.</i> , 2010
13	76,9	222	EM ² [222]: 166, 149, 123, 121, 81	Espilantol	Boonen <i>et al.</i> , 2010
14	80,1	236	EM ² [236]: 166,149, 123, 121,	(2E,6Z,8E)-N-(2- metilbutil)-2,6,8- decatrienamida	Boonen <i>et al.</i> , 2010
15	82,4	248	EM ² [248]: 220, 175, 149, 147, 142. 121, 107	(2E,4E,8Z,10Z)-N-isobutil- dodeca-2,4,8,10-tetraenamida	Boonen <i>et al.</i> , 2010

Figura 6 - Cromatograma do pico base do extrato tratado de *A. oleracea* no modo positivo (A) e no modo negativo (B).

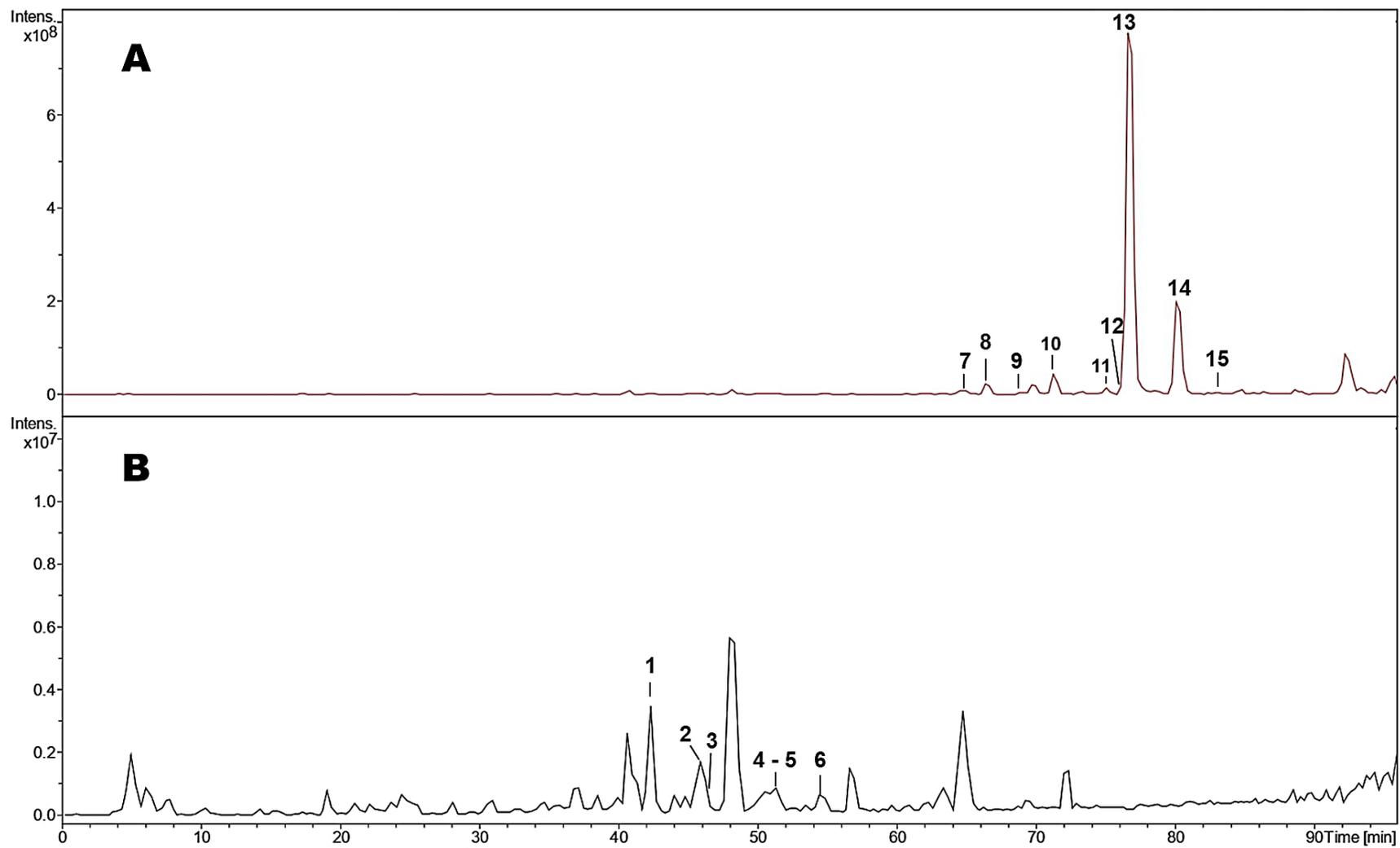


Figura 9 - Expansão I do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da subfração-T1.

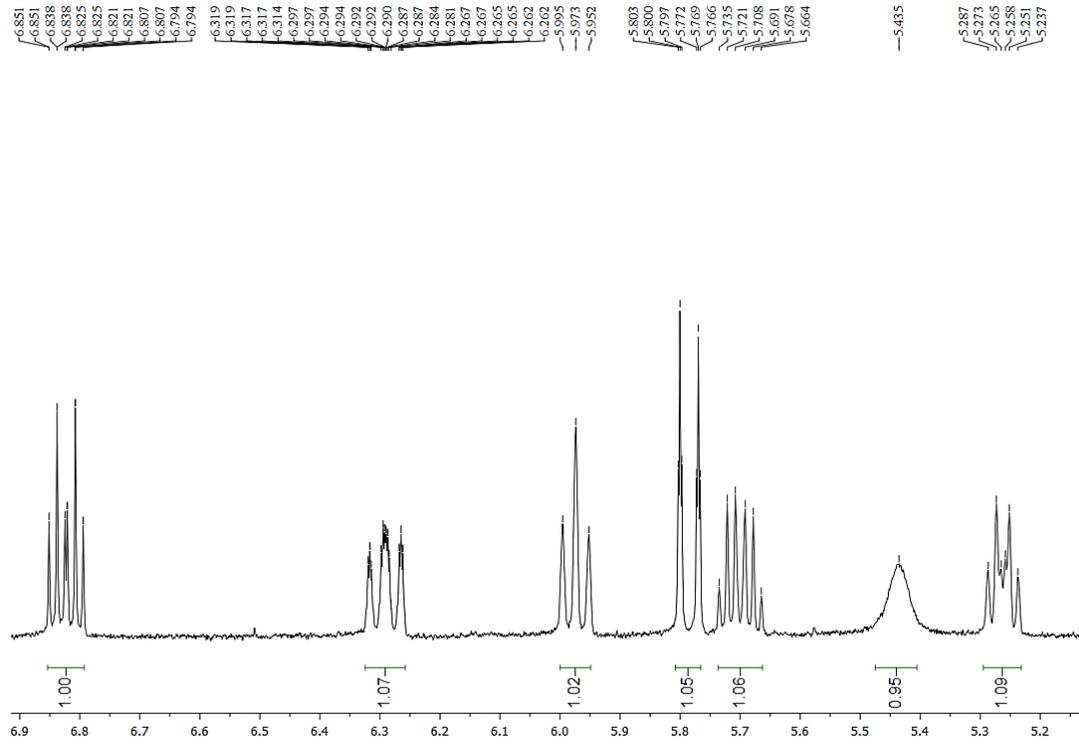


Figura 10 - Expansão II do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da subfração-T1.

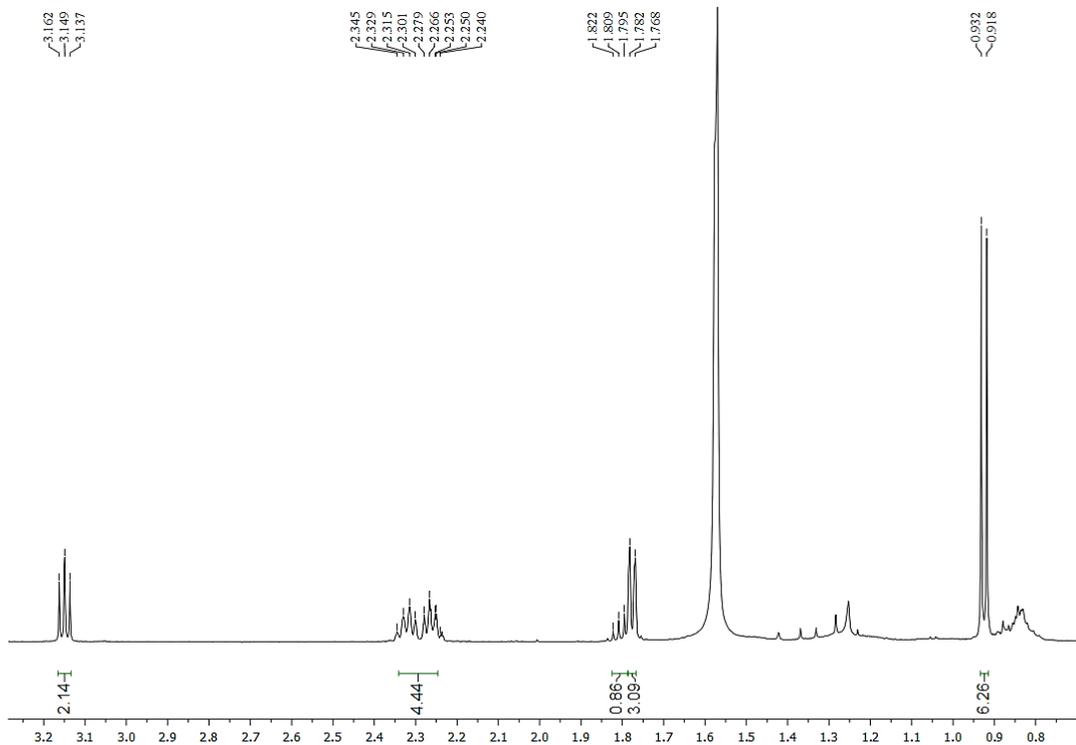
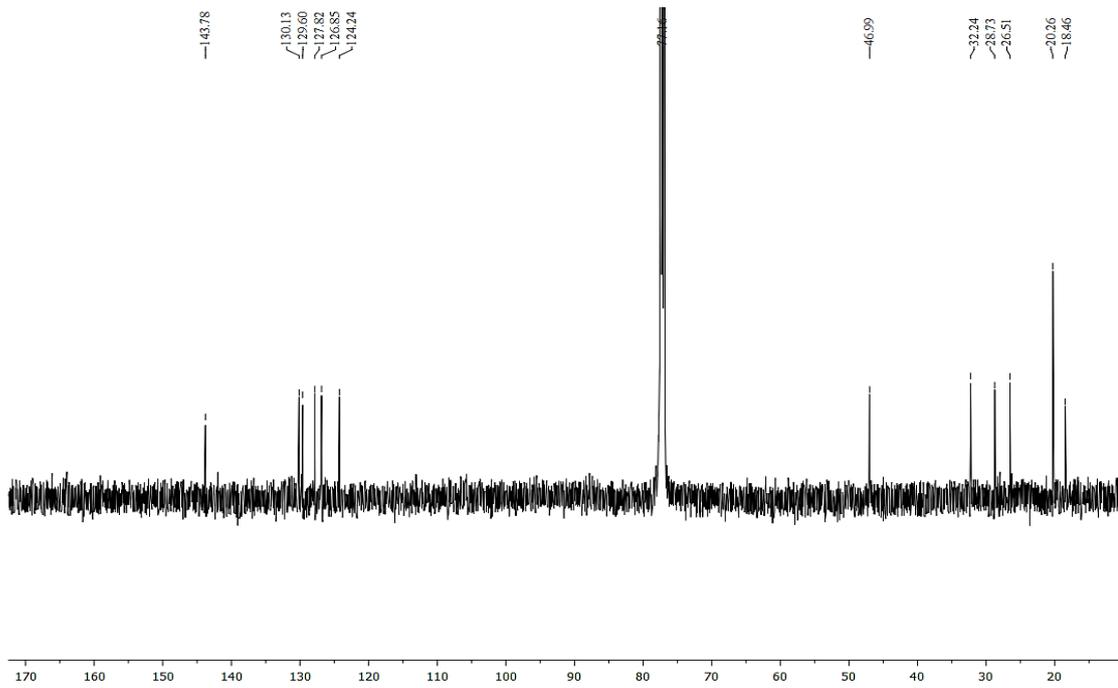


Figura 11 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da subfração-T1.



A pureza do espilantol isolado foi analisada por CLAE-DAD (Figuras 12 e 13). Não foi identificada a presença de impurezas, sendo compatível para ser usado como padrão analítico no processo de quantificação.

Figura 12 - Cromatograma em 230 nm do espilantol isolado.

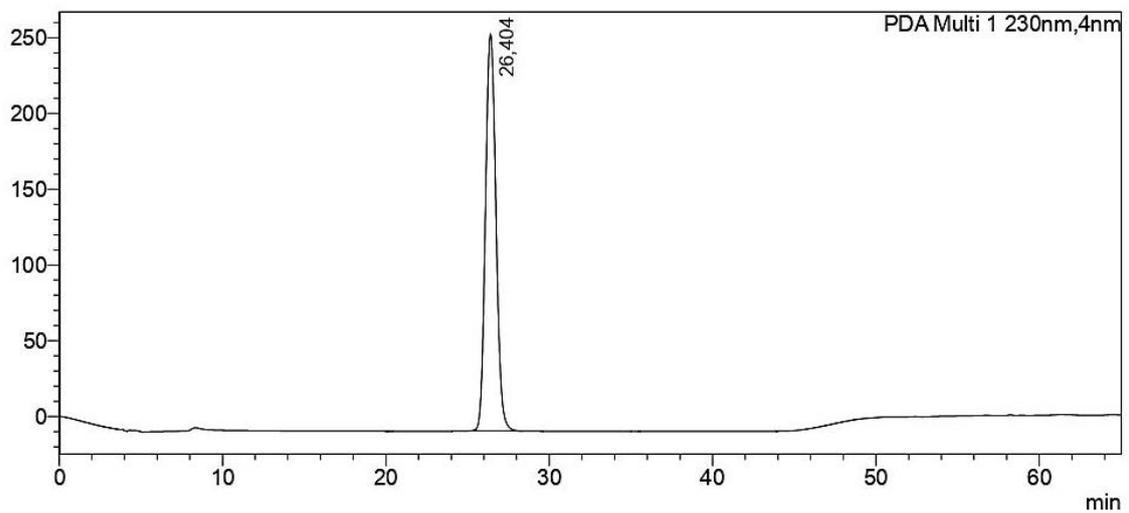
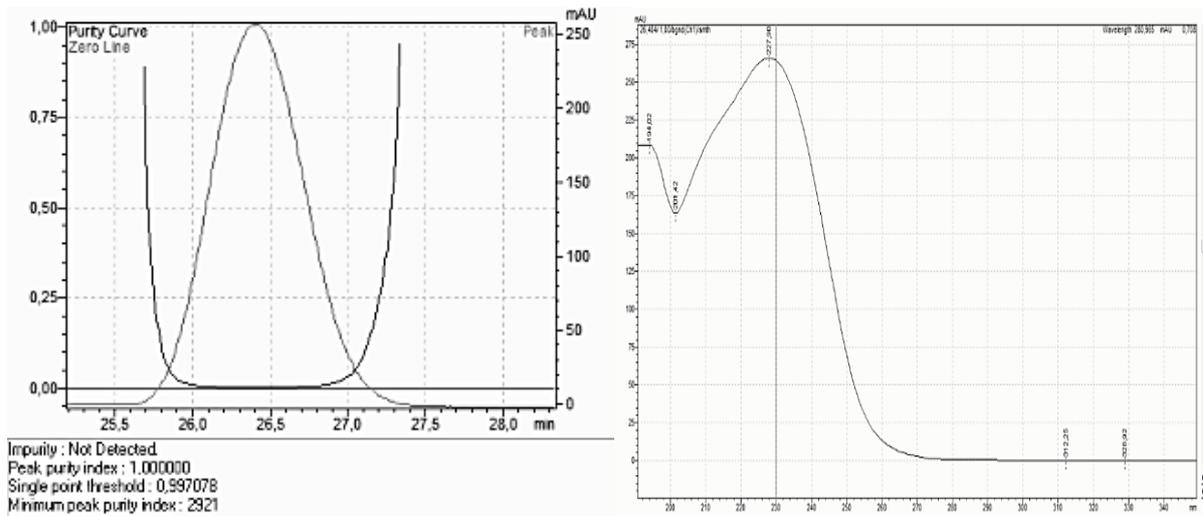


Figura 13 - Pureza do pico do marcador espilantol e seu espectro ultravioleta.



5.4 Quantificação do espilantol no EEB e EEBT

O método desenvolvido permitiu a separação do espilantol dos demais metabólitos dos extratos (EEB e EEBT) (Figuras 14 e 15), assegurando que a metodologia pode ser usada para quantificação deste marcador no extrato, assim como, para um posterior processo de validação.

Figura 14 - Cromatograma do EEB de *A. oleracea*. O espilantol é observado no tempo de retenção de 25,65 minutos.

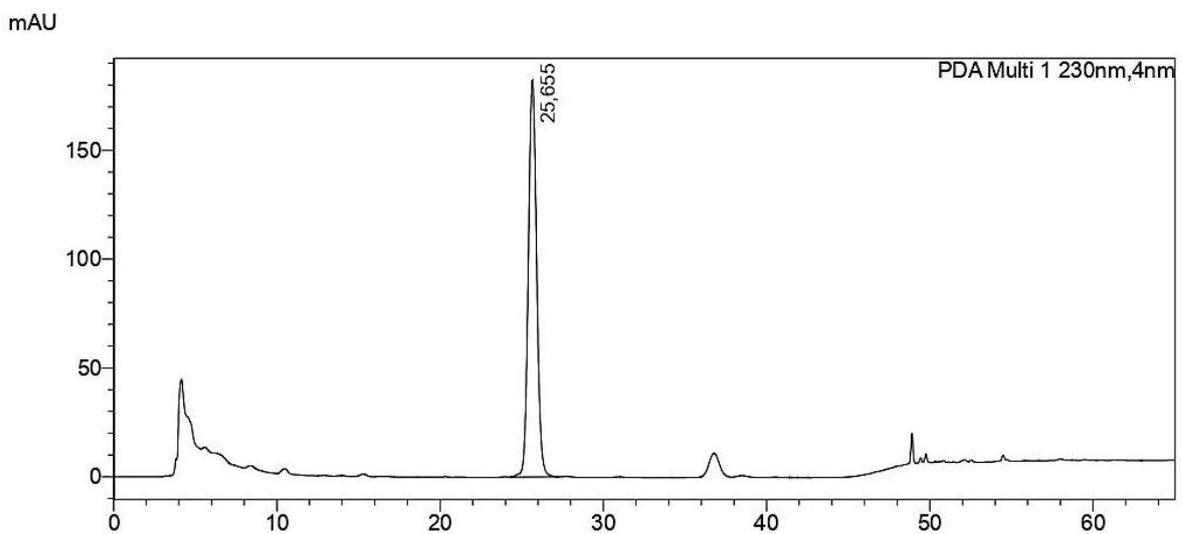
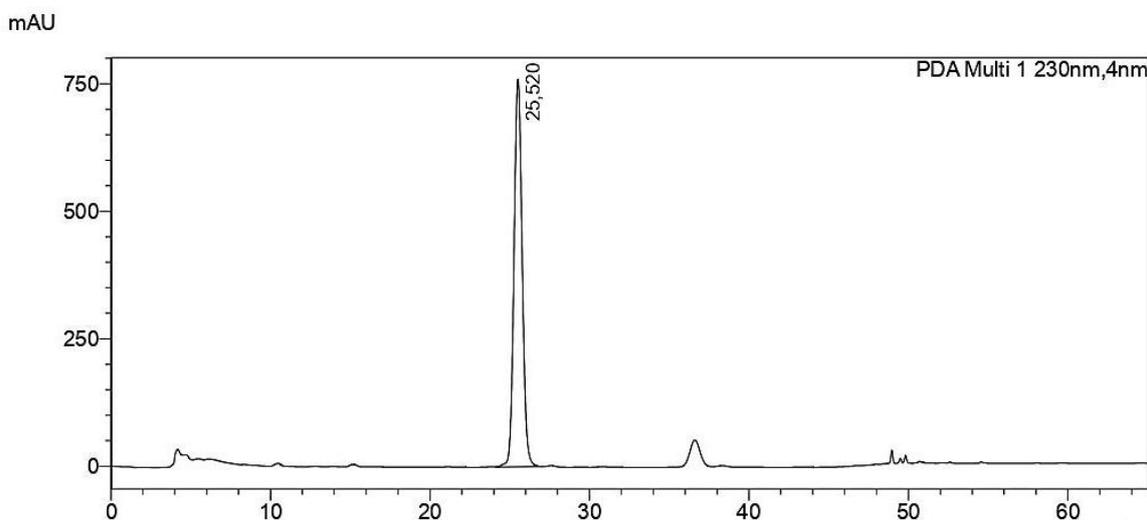


Figura 15 - Cromatograma do EEBT de *A. oleracea*. O espilantol é observado no tempo de retenção de 25,52 minutos.



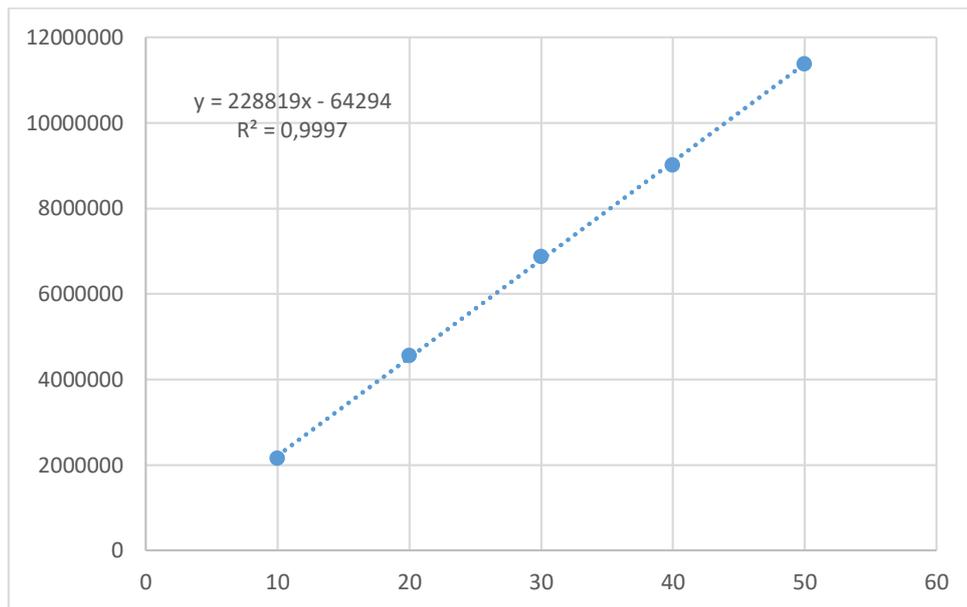
A curva analítica do padrão de espilantol para o EEB utilizou as concentrações de 10 a 50 $\mu\text{g/mL}$, sendo cada concentração realizada em triplicata ($n=3$). O método dos mínimos quadrados foi utilizado para a construção da curva de calibração e a variância da regressão foi utilizada nas análises. As áreas obtidas do padrão utilizadas na curva de calibração para o EEB podem ser observadas na tabela 2. O valor da equação da reta $y = 228819x + 64294$ e o $R^2 = 0,9997$ (Gráfico 1) foi obtido através da curva analítica desenvolvida.

Tabela 2 - Valores obtidos na produção da curva analítica para o EEB.

Concentração	Repetição	Área	Média	DPR (%)
10 $\mu\text{g/mL}$	1	2078454	2163361	4,6
	2	2275134		
	3	2136495		
20 $\mu\text{g/mL}$	1	4560240	4565982	3,1
	2	4711142		
	3	4426564		
30 $\mu\text{g/mL}$	1	6763309	6877755	2,2
	2	7050261		
	3	6819695		
40 $\mu\text{g/mL}$	1	9172485	9013874	2,4

	2	8757202		
	3	9111935		
	1	11701254		
50 µg/mL	2	10886481	11380342	3,8
	3	11553292		

Gráfico 1 - Curva de calibração do espilantol para o EEB.



A concentração de espilantol no EEB foi determinada utilizando a equação da reta produzida pela curva analítica. O EEB na concentração de 1mg/mL foi analisado em triplicata (Tabela 3), obtendo uma concentração média de 28,33 mg/g de espilantol no EEB.

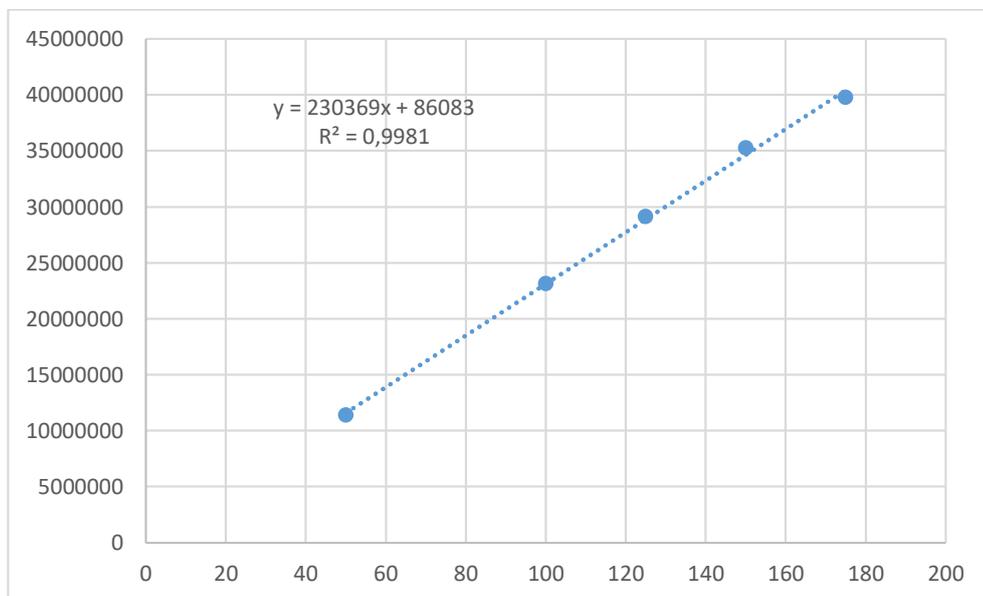
Tabela 3 - Quantificação do espilantol no EEB.

Repetição	Concentração de espilantol (mg/g)	Média (mg/g)	DPR (%)
1	28,19		
2	28,43	28,33	0,44
3	28,38		

Para o EEBT a curva analítica desenvolvida continha as concentrações entre 50 e 175 µg/mL (Tabela 4) e produziu um valor da equação da reta $y = 230369x + 86083$ e o $R^2 = 0,9981$ (Gráfico 2).

Tabela 4 - Valores obtidos na produção da curva analítica para o EEBT.

Concentração	Repetição	Área	Média	DPR (%)
50 µg/mL	1	11701254	11380342,3	3,8
	2	10886481		
	3	11553292		
100 µg/mL	1	23260431	23126665	0,8
	2	22992899		
	3	23142907		
125 µg/mL	1	29332215	29121246	1,0
	2	28910277		
	3	26744942		
150 µg/mL	1	35980983	35272797	1,7
	2	34881777		
	3	34955633		
175 µg/mL	1	40624028	39750469	4,0
	2	37887028		
	3	40740351		

Gráfico 2 - Curva de calibração do espilantol para o EEBT.

Através da equação da reta obtida, e as áreas produzidas pelo epilantol no EEBT (n=3) na concentração de 1mg/mL, a concentração média de epilantol encontrada no EEBT foi 117,96 mg/g (Tabela 5).

Tabela 5 - Quantificação do epilantol no EEBT.

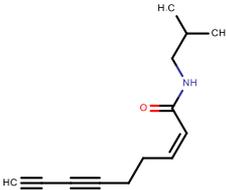
Repetição	Concentração de epilantol (mg/g)	Média (mg/g)	DPR (%)
1	117,96		
2	117,89	117,96	0,05
3	118,02		

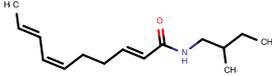
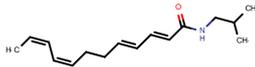
O teste t foi aplicado para avaliar se as médias dos resultados obtidos para a quantificação de epilantol no EEB e EEBT podem ser consideradas estatisticamente diferentes. Nesta análise, o t calculado (-1012,1574) foi menor que o t crítico (4,3026), desta forma, indica diferença significativa entre as concentrações de epilantol no EEB e EEBT, mostrando que o tratamento do EEB com carvão ativo à 4% promove o aumento da concentração desse composto no extrato.

5.5 Docking molecular

O estudo do docking molecular foi validado através do cálculo do RMSD, obtendo os valores de 0.25 e 0.13 para as proteínas TRPV1 e CB2, respectivamente. Quanto mais próximo de zero melhor está o modelo, dessa forma os modelos obtiveram um ótimo desempenho. Na tabela 6, observamos as estruturas moleculares das alquilamidas aplicadas no estudo.

Tabela 6 - Alquilamidas identificadas no EEBT de *A. oleracea* e aplicadas no estudo do docking molecular.

Alquilamidas	Nome	Estrutura
1	(2Z)-N-isobutil-2- nonen-6,8- diinamida	

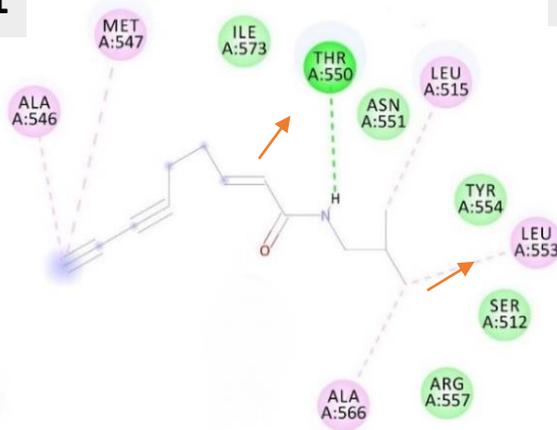
8	(2E,6Z,8E)-N-(2-metilbutil)-2,6,8-Decatrienamida	
9	(2E,4E,8Z,10Z)-N-isobutil-dodeca-2,4,8,10-tetraenamida	

5.5.1 Receptor TRPV1

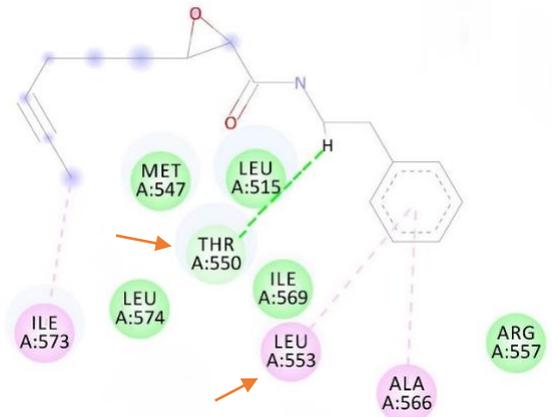
Todas as alquilamidas possuem o grupo amida interagindo com o resíduo de aminoácido THR550 responsável por atividade antinociceptiva (DE LA ROSA-LUGO *et al.*, 2017), seja por interações de hidrogênio, como ocorre nas alquilamidas 1- 4, 6 e 8, ou por interações de Van der Waals, alquilamidas 5, 7 e 9. As alquilamidas não interagiram com o resíduo de aminoácido GLU570, favorecendo a ausência de pungência associada a esse resíduo. Além disso, as alquilamidas interagem com o resíduo de aminoácido LEU553, característica de agonistas parciais. Dessa forma, o estudo de docking molecular sugere que as alquilamidas investigadas no presente estudo possuem potencial atividade antinociceptiva, agindo no receptor como agonistas parciais. As interações das alquilamidas no sítio ativo da proteína TRPV1, podem ser observada na figura 16.

Figura 16 - Interações moleculares entre as alquilamidas 1-9, e os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da proteína TRPV1 (PDB ID 5IRX). As setas indicam os resíduos de aminoácidos importantes para interação e resposta no sítio ativo.

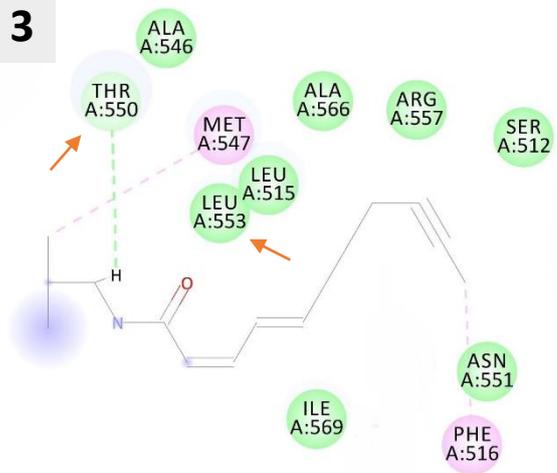
1



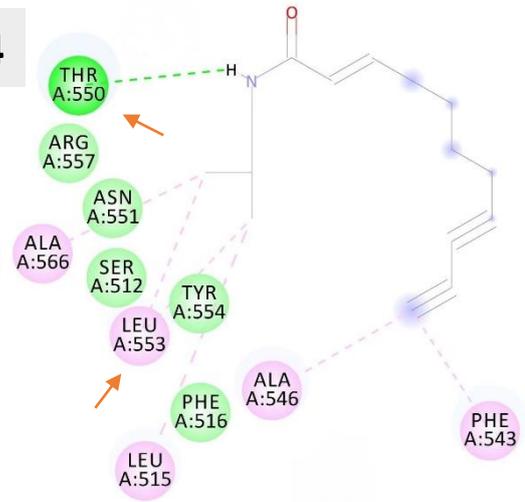
2



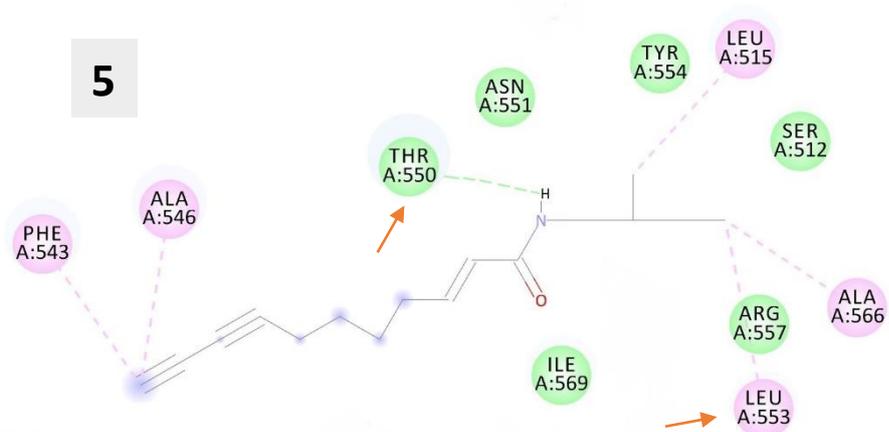
3

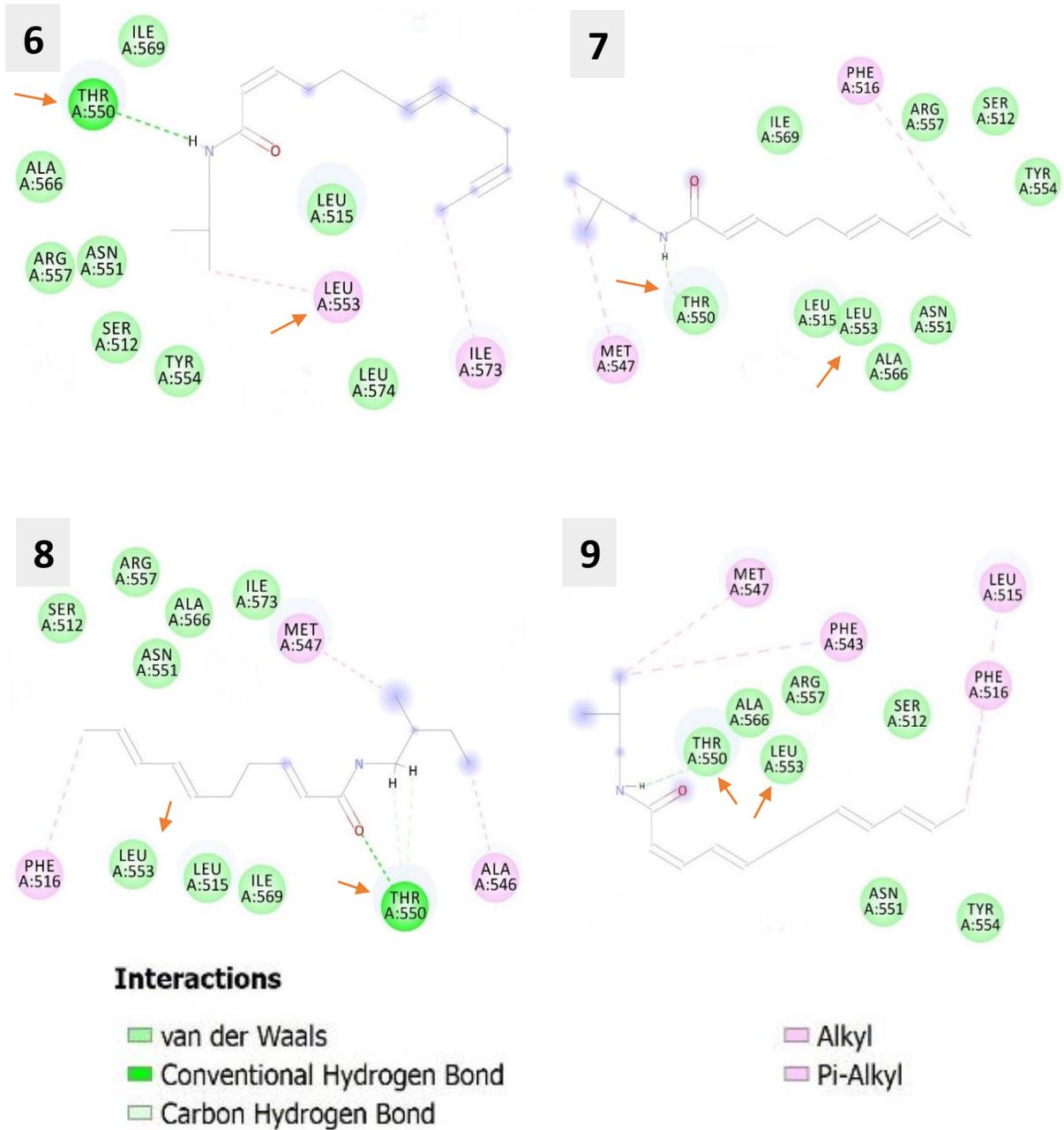


4



5





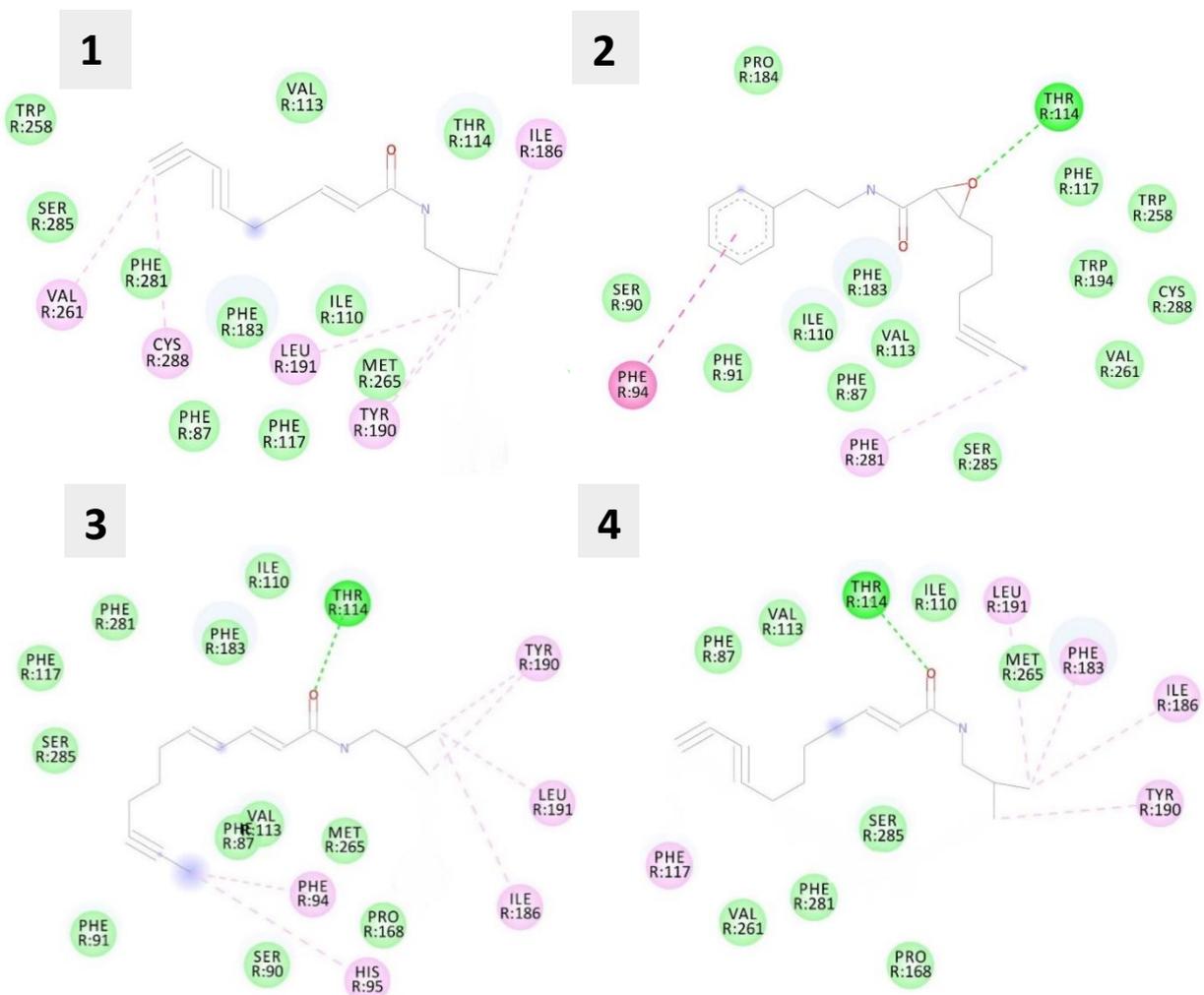
5.5.2 Receptor CB_2

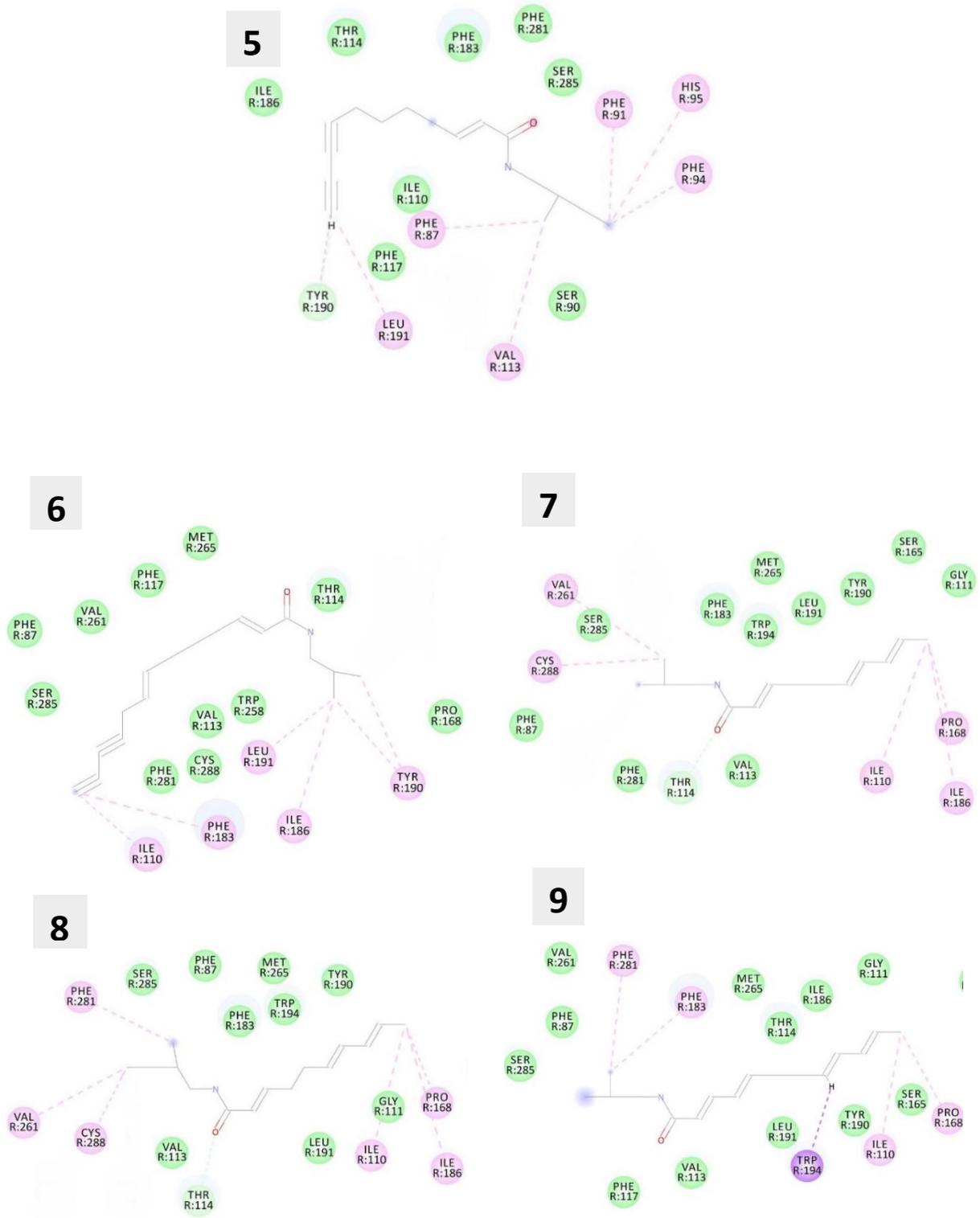
A fim de esclarecer melhor quais resíduos são mais críticos na ativação do receptor CB_2 , Xing e colaboradores (2020) calcularam a contribuição da energia dos resíduos de aminoácidos do sítio ativo individual. Apesar da maioria dos resíduos de aminoácidos do sítio ativo contribuírem igualmente para o reconhecimento e interação do antagonista e do agonista, três resíduos se mostraram potencialmente importantes para obter a distinção, TRP194, TRP258 e

PHE117, esses resíduos ficam distantes e não interagem de forma direta com o agonista (XING *et al.*, 2020). Assim, para uma molécula atuar como agonista no receptor CB₂ não deve ocorrer interação direta com os resíduos de aminoácidos citados anteriormente.

Com base nessas informações, foi realizado o estudo do docking molecular na proteína CB₂ e investigado o potencial agonista das alquilamidas isoladas neste trabalho, foi possível observar que as alquilamidas não interagem ou interagem fracamente com esses resíduos, correspondendo a interações estéricas fracas a uma distância superior a 4.5 Å. Assim, o estudo de docking sugere que as alquilamidas investigadas do presente estudo são agonistas dos receptores CB₂. A figura 17 mostra as interações das alquilamidas no sítio ativo da proteína CB₂.

Figura 17 - Interações moleculares entre as alquilamidas 1-9, e os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da proteína CB₂ (PDB ID 6pto).





Interactions

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Carbon Hydrogen Bond

- Alkyl
- Pi-Alkyl

5.6 Unidades de entrega mastigáveis

Foram produzidas unidades de entrega a base de hidrocolóides comestíveis incorporadas com EEBT das flores de *A. oleracea*. A formulação mostrou-se macia e flexível ao manuseio, apresentando tamanho reduzido, projetado para facilitar a administração. Além disso, os atributos de cor e translucidez obtidos (Figura 18) podem atrair a preferência do paciente, possibilitando uma melhor adesão ao tratamento. Não foi identificada alterações visíveis consideráveis na integridade física, durante o período de observação de 30 dias (Figura 19).

Figura 18 - Unidade de entrega nutracêutica desenvolvida contendo EEBT das flores de *A. oleracea*.

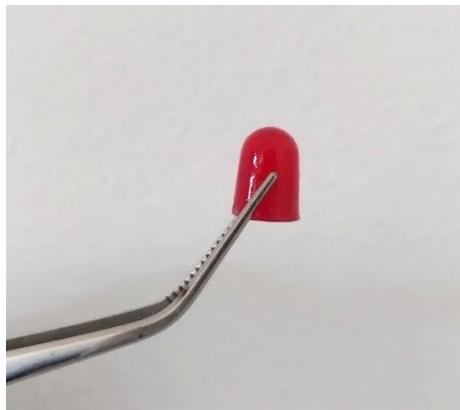
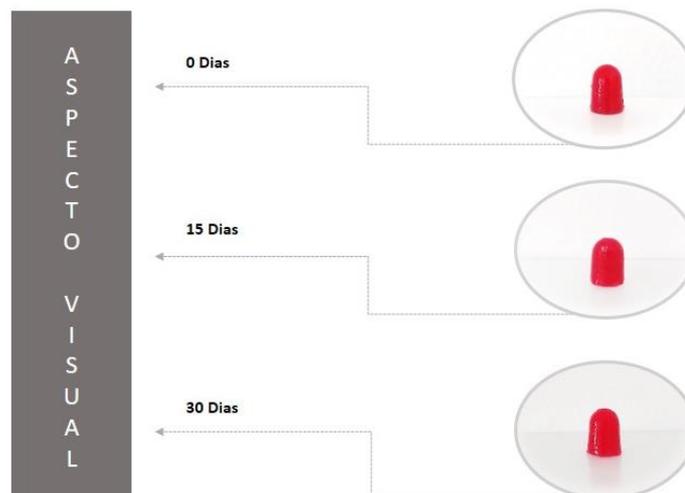


Figura 19 - Aspecto visual das unidades de entrega mastigáveis durante o período de 30 dias.



6 DISCUSSÃO

O extrato de *A. oleracea* representa um nutracêutico com diferentes atividades biológicas, no entanto, tem sido pouco explorado (UTHPALA; NAVARATNE, 2020; SANTOS *et al.*, 2021). Este estudo analisou o extrato das flores de *A. oleracea*, tratado com carvão ativo, cujos resultados revelaram perfil fitoquímico e interações moleculares com receptores alvos, envolvidos na síndrome da ardência bucal, que embasaram o desenvolvimento de uma formulação nutracêutica para o tratamento sintomático da SAB.

No processo extrativo dos compostos ativos de *A. oleracea* foi utilizado o solvente etanol, por apresentar maior capacidade extrativa do espilantol e adequada manutenção da sua estabilidade, por no mínimo seis meses, a temperatura ambiente (BAE *et al.*, 2010; BALIEIRO *et al.* 2020). Além disso, apresenta menor toxicidade, baixo custo e segurança em sua aplicação (SILVA *et al.*, 2021). Os capítulos florais de *A. oleracea* são ricos em alquilamidas, com presença majoritária do espilantol (CHENG *et al.*, 2015; RONDANELLI *et al.*, 2020), reafirmando a sua seleção como parte vegetal empregada no processo extrativo deste estudo. O rendimento extrativo do EEB das flores de *A. oleracea* foi de 9.4%, superior ao rendimento relatado por Freitas-Blanco e colaboradores (2016), que utilizando método extrativo similar o rendimento médio relatado foi de 7.7%. Esta diferença de rendimento extrativo pode estar associada ao emprego dos capítulos florais frescos neste estudo.

Técnicas que auxiliam a remoção de pigmentos e aumentam a disponibilidade de bioativos são relevantes no desenvolvimento de formulações que utilizam extratos vegetais em sua composição. Neste sentido, foi selecionado o método descrito por Freitas-Blanco e colaboradores (2016), com adaptações, envolvendo o tratamento do extrato etanólico das partes aéreas de *A. oleracea* com 4% de carvão ativo, para obtenção de um extrato com maior teor de espilantol e com redução de pigmentos. Foi modificado o tempo de tratamento e granulometria do carvão ativo aplicado, onde optou-se por submeter o extrato etanólico das flores de *A. oleracea* ao carvão ativo granular, sob agitação rotativa aquecida, por apenas 30 minutos, com o intuito de reduzir a possibilidade de remoção de compostos fenólicos pelo carvão ativo (CHEE *et al.*, 2013; REN *et al.*, 2018), que podem ofertar propriedades antioxidantes importantes a formulação. Foi observado melhor rendimento para o EEBT (5.2%) em relação ao rendimento encontrado por Freitas-Blanco e colaboradores (2016), que foi de 4%. O tempo de exposição reduzido do extrato ao carvão ativo, pode ter ocasionado a menor remoção da massa orgânica e compostos em função do tratamento, correspondendo a um maior valor de massa seca obtida. Optou-se pela aplicação do carvão ativo granular ao invés do carvão ativo

pulverizado, como forma de evitar o escurecimento da formulação observado no estudo de Freitas-Blanco *et al.* (2016). Além dessas vantagens, a adaptação do método também proporcionou otimização do tempo de processamento do extrato, com redução de 30 minutos. O tratamento com carvão ativo, além de fornecer atributos de cor e odor agradáveis, pode atuar no controle microbiológico (PHAN, 2006; ARAKAWA, 2014) e otimizar a concentração de espilantol no fitocomplexo.

A avaliação do perfil fitoquímico do EEBT das flores de *A. oleracea* revelou a presença de nove alquilamidas, sendo o espilantol o composto predominante, corroborando com estudos anteriores (BAE *et al.*, 2010; CHENG *et al.*, 2015; SAVIC *et al.*, 2021). As demais alquilamidas identificadas (7-12, 14 e 15) já foram relatadas em outros estudos fitoquímicos da *A. oleracea* (BOONEN *et al.*, 2012; CHENG *et al.*, 2015; NASCIMENTO *et al.*, 2020; SAVIC *et al.*, 2021; STEIN *et al.*, 2021). As alquilamidas constituem o grupo de compostos mais investigado na *A. oleracea*, no entanto, aponta-se a necessidade de avaliar as demais classes de biocompostos. Este estudo analisou compostos fenólicos, cuja análise indicou a presença de flavonoides glicosilados, como derivados de quercetina (1,3,4,5) e camferol (2,6). Não foram identificados na literatura estudos que indicassem a presença dos compostos fenólicos (1, 2, 3,4,6) no extrato das flores de *A. oleracea*, sendo, possivelmente, relatados pela primeira vez.

O estresse oxidativo parece está intimamente associado a patogênese da SAB. As plantas medicinais são as maiores fontes de compostos antioxidantes, sendo os compostos fenólicos os principais responsáveis em promover a atividade antioxidante (CAROCHO; FERREIRA, 2013). Na *A. oleracea* o teor de compostos fenólicos foi relatado em maior concentração nas folhas ($7,59 \pm 1,26$ mg) e flores ($5,34 \pm 0,75$ mg) (ABEYSIRI *et al.*, 2013). Dallazen *et al.* (2019) e Weintraub *et al.* (2020) relataram que a propriedade antioxidante é atribuída à presença de compostos fenólicos e flavonoides nos extratos de *A. oleracea*, facilmente extraídos na presença de solventes polares, como o etanol empregado neste estudo. No presente estudo foi identificado no perfil fitoquímico do EEBT a presença de derivados de quercetina e camferol, polifenóis com potencial atividade antioxidante (ALVES *et al.*, 2010; SIMÕES *et al.*, 2013), o que pode favorecer o perfil antioxidante do fitocomplexo, além da presença das alquilamidas, que podem contribuir com essa atividade (ELUFIOYE; HABTEMARIAM; ADEJARE, 2020). O tratamento com carvão ativo pode constituir um método para potencializar a atividade antioxidante do fitocomplexo, possivelmente em função da remoção dos pigmentos presente no extrato bruto, facilitando o contato dos compostos antioxidantes com os radicais livres. Além da atividade antioxidante, os flavonóis camferol, quercetina e seu glicosídeo rutina apresentam outras bioatividades, como anti-inflamatória,

antinociceptiva e neuroprotetora, respectivamente (JAKIMIUK; WINK; TOMCZYK, 2021; CORDEIRO *et al.*, 2021), que podem ser úteis no gerenciamento da SAB.

Na literatura são evidenciados poucos estudos que realizam a quantificação do espilantol no extrato de *A. oleracea*. Cheng *et al.* (2015) relataram a necessidade da aplicação de métodos confiáveis para determinação de concentrações de marcadores bioativos como o espilantol, ressaltando que a CLAE pode fornecer dados plausíveis e precisos. Sendo assim, foi desenvolvido neste trabalho métodos baseados em CLAE-DAD, para o isolamento do espilantol a partir do EEBT, e este foi empregado como padrão analítico para o processo de quantificação do espilantol nos extratos. Os métodos desenvolvidos para isolamento e quantificação de espilantol mostraram-se eficientes através dos cromatogramas e espectros de RMN obtidos. Foi observado também que o uso do EEBT no método de isolamento otimizou o processo, tendo em vista, que o tratamento com carvão ativo atuou como uma etapa de pré-purificação do extrato. Os métodos descritos no presente trabalho são sensíveis e apresentam reprodutividade, indicando sua aplicabilidade para obtenção de um padrão analítico e análise do teor de espilantol, além de fornecer um método otimizado para obtenção do ativo isolado, que podem ser úteis no desenvolvimento de outros estudos.

No presente estudo foi observado por CLAE, 28.33 mg/g de espilantol no EEB das flores de *A. oleracea*. Cheng *et al.* (2015) verificaram, através de CLAE, 84.52 mg/g de espilantol no extrato etanólico bruto das flores de *A. oleracea*. Em estudo mais recente, foi observado nas flores de *Acmella ciliata*, por meio de CLAE, 18.44 mg/g de espilantol (SHARMA *et al.*, 2021). As diferenças no teor de espilantol podem ser atribuídas a fatores como a sazonalidade, cultivo e desenvolvimento da planta, que influenciam o conteúdo e a disponibilidade de metabólitos secundários (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). No entanto, quando o EEB das flores de *A. oleracea* foi submetido ao tratamento com 4% de carvão ativo, houve aumento significativo do teor de espilantol, com a obtenção de 117.96 mg/g de espilantol para o EEBT. O tratamento com carvão ativo favorece o aumento do conteúdo de espilantol, podendo conferir melhor permeação da mucosa (FREITAS-BLANCO *et al.*, 2016), e aplicação de menores concentrações do fitocomplexo no desenvolvimento de formulações, além de constituir um método de baixo custo e fácil reprodução. Não foi identificado na literatura, até o momento da realização deste estudo, nenhum trabalho que tenha realizado a caracterização fitoquímica, isolamento e quantificação de espilantol no extrato etanólico das flores de *A. oleracea* tratado com carvão ativo.

A superexpressão dos receptores TRPV1 e CB₂ em pacientes com SAB (BORSANI *et al.*, 2014) norteia uma possível via terapêutica envolvendo sua patogênese. O docking

molecular possibilitou avaliar as interações do espilantol e de outras alquilamidas presentes no EEBT, frente aos receptores TRPV1 e CB₂. Todas as alquilamidas apresentaram interações do grupo amida com o resíduo de aminoácido THR550 do TRPV1, que está relacionado à atividade antinociceptiva (DE LA ROSA-LUGO *et al.*, 2017), podendo ser responsável pelo efeito antinociceptivo *in vivo*, conforme relatado em estudos anteriores (NOMURA *et al.*, 2013; DALLAZEN *et al.*, 2018). Não foi observada interação entre as alquilamidas com o resíduo GLU570, o que pode indicar a ausência de pungência. Resultados similares foram encontrados por De La Rosa-Lugo *et al.* (2017) quando analisaram a interação do espilantol e outras alquilamidas de *Heliopsis longipes* com o resíduo GLU570. De La Rosa-Lugo *et al.* (2017) observaram interação da capsaicina com o resíduo GLU570, a capsaicina é uma substância oriunda da pimenta e responsável pela sensação de ardência. Foi identificada também no presente estudo a interação das alquilamidas naturais de *A. oleracea* com o resíduo LEU553, o que denota um possível comportamento das alquilamidas como agonistas parciais dos canais TRPV1. Esta interação havia sido relatada anteriormente apenas em alquilamidas sintéticas (DE LA ROSA-LUGO *et al.*, 2017). Os agonistas parciais ligam-se aos receptores, impedindo que o agonista integral estabeleça ligação. Dessa forma, o agonista parcial atua como antagonista competitivo (LIEBERMAN *et al.*, 2004). Neste sentido, estes resultados, sinalizam que as alquilamidas presentes no fitocomplexo do EEBT, podem limitar os efeitos dolorosos produzidos pela ativação dos receptores TRPV1, por parte dos agonistas integrais, dada a sua maior expressão em pacientes com SAB. Considerando que os agonistas parciais exercem atividade intrínseca de ativação reduzida, quando comparado com os agonistas integrais, favorece o seu comportamento como um agonista funcional ou um antagonista funcional (LIEBERMAN *et al.*, 2004; SIMON; AZORIN, 2018). Assim, essa modulação dos canais TRPV1 por agonistas parciais pode ser crucial para a manutenção de respostas fisiológicas desempenhadas por este canal iônico, relevantes para homeostase, como a redução do estresse oxidativo (GUPTA *et al.*, 2014), além da neuroproteção e o reparo de pequenas fibras nervosas (RAMÍREZ-BARRANTES; MARCHANT; OLIVERO, 2016), que representam possíveis escopos para modulação dos sintomas da SAB de origem neuropática. As alquilamidas presentes no fitocomplexo de *A. oleracea* apresentaram um padrão de interação linear, sem muito distanciamento do comportamento molecular desenvolvido pelo espilantol, sugerindo atuação em conjunto, promovendo atividade antinociceptiva. As alquilamidas também exerceram interação molecular com o receptor CB₂, sugerindo uma atuação como agonistas (XING *et al.*, 2020), corroborando com dados de Woelkart *et al.* (2008) e reforçando seu comportamento com fitocanabinoides, o que pode favorecer respostas antinociceptivas e anti-

inflamatórias (KOMOROWSKA-MÜLLER; SCHMOELE, 2021), no gerenciamento da SAB. Destacamos que não foi identificado na literatura consultada nenhum estudo do comportamento molecular das alquilamidas de *A. oleracea* frente as proteínas TRPV1 e CB₂. Os achados evidenciados no presente estudo sugerem o emprego do fitocomplexo de *A. oleracea*, composto por alquilamidas e compostos fenólicos, como uma fonte promissora de bioativos para o tratamento sintomático da SAB.

O desenvolvimento de novas formas de entrega de bioativos, direcionado a atender as necessidades fisiopatológicas de condições crônicas, como a SAB, e que possam fornecer propriedades organolépticas atrativas, que facilitem a adesão ao tratamento, faz-se necessário em um cenário com aumento contínuo na expectativa de vida, cujas alterações fisiopatológicas tornam-se mais evidentes. O sistema de entrega de drogas é mundialmente conhecido como “drug delivery” e o emprego de hidrocolóides como a gelatina desperta atenção da comunidade científica, em função das inúmeras vantagens. Dentre essas vantagens, destacam-se a capacidade de formar uma rede tridimensional para armazenamento e proteção do ativo; dissolução em temperatura corpórea, ideal para administração por via oral; biocompatibilidade; maior biodisponibilidade; baixo custo; fácil manipulação, uma vez que assume diversas conformações; além da possibilidade serem produzidas a nível de farmácias de manipulação ou no campo industrial (FOOX; ZILBERMAN, 2015; GHAHREMAN *et al.*, 2020), representando, assim, um potencial sistema de entrega para nutracêuticos (DILLE; HATTREM; DRAGET, 2018). Nesta perspectiva, a formulação nutracêutica desenvolvida neste estudo, contendo o EEBT de *A. oleracea*, pode constituir uma possível opção terapêutica no tratamento sintomático da SAB. A unidade de entrega mastigável que foi desenvolvida apresenta composição simples e baixo custo, em relação ao processo de obtenção e ao produto final. Além disso, foi preparada com edulcorantes anticariogênicos, e sem adição de sacarose. O aspecto visual foi semelhante à de uma “bala de goma”, atributo atrativo, que pode favorecer a adesão e manutenção do tratamento sintomático da SAB, uma vez que as pessoas acometidas por SAB, geralmente, apresentam resistência aos protocolos farmacológicos convencionais (KIM; KHO, 2018). Na formulação nutracêutica não foi empregado nenhum conservante artificial, como os parabenos, em virtude de seu perfil tóxico e a possibilidade de desenvolvimento de reações alérgicas (WANG *et al.*, 2020). No entanto, foram mantidos os aspectos visuais, sem indicativo de proliferação microbiológica, durante o período de 30 dias. Barbosa *et al.* (2016) descreveram atividade anti-tirosinase dos extratos de *A. oleracea*, especialmente da fração rica em espilantol, o que pode ter contribuído para manutenção dos aspectos visuais. Em outro estudo, foi relatado atividade antimicrobiana do extrato das flores de *A. oleracea* contra

Salmonella typhi (ALCANTARA *et al.*, 2015), podendo ser considerado um conservante natural e contribuir no controle de qualidade da formulação nutracêutica. Estudos a posteriori devem avaliar o perfil antioxidante e citotóxico do EEBT, e desenvolver análises microbiológicas e de estabilidade acelerada da formulação nutracêutica.

7 CONCLUSÃO

- O extrato hidroalcólico das flores da *A. oleracea*, tratado com carvão ativo, apresenta perfil fitoquímico, com indicação da presença de alquilamidas e compostos fenólicos, tendo como composto majoritário o espilantol.
- O tratamento com carvão ativo permitiu aumento significativo do teor de espilantol e redução de pigmentos, o que pode facilitar a incorporação e redução da concentração do fitocomplexo em formulações.
- A interação molecular do espilantol e alquilamidas, identificadas no EEBT, com os receptores TRPV1 e CB₂ sugerem possíveis atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e neuroprotetora, apontando o seu potencial no gerenciamento da sintomatologia da SAB.
- Foi possível desenvolver uma unidade de entrega nutracêutica, contendo o EEBT de *A. oleracea*, com perspectiva para sua indicação no tratamento sintomático da SAB.

REFERÊNCIAS

- ABEYSIRI, G. R. P. I. *et al.* Screening of phytochemical, physico-chemical and bioactivity of different parts of *Acmella oleraceae* Murr. (Asteraceae), a natural remedy for toothache. **Industrial Crops and Products**, v.50, p. 852–856, 2013.
- ALAWI, K. M. *et al.* The sympathetic nervous system is controlled by transient receptor potential vanilloid 1 in the regulation of body temperature. **Faseb Journal**, v. 29, n. 10, p. 4285-4298, 2015.
- ALCANTARA, B. N. *et al.* Pharmacognostic analyses and evaluation of the in vitro antimicrobial activity of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen (Jambu) floral extract and fractions. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n.4, p. 91–96, 2015.
- ALVES, C.Q. *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quím. Nova**. v.33, n.10, p. 2202-2210, 2010.
- ARAKAWA, F. S. Carvão ativado impregnado com nanopartículas de prata e óxido de cobre para aplicação antibacteriana no tratamento de água. **Revista Tecnológica**, Edição Especial, p. 215-225, 2015.
- ARAMWIT, P. *et al.* A comparative study of type A and type B gelatin nanoparticles as the controlled release carriers for different model compounds. **Materials Express**, v. 5, n. 3, p.241–248, 2015.
- ARONSON, J. K. Defining “nutraceuticals”: neither nutritious nor pharmaceutical. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v.83, n. 1, p. 8–19, 2016.
- AUGUSTIN, M. A.; SANGUANSRI, L. Challenges in developing delivery systems for food additives, nutraceuticals and dietary supplements. **Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals**, p.19–48, 2012.
- AUGUSTIN, M. A.; SANGUANSRI, L. Challenges and Solutions to Incorporation of Nutraceuticals in Foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, v.6, n.1, p. 463–477, 2015.
- AZZI, L. *et al.* A “burning” therapy for burning mouth syndrome: preliminary results with the administration of topical capsaicin. **J Biol Regul Homeost Agents**, v.31; n. 2, p. 89-95, 2017.
- BAE, S. S. *et al.* A Validated Liquid Chromatography–Electrospray Ionization–Mass Spectrometry Method for Quantification of Spilanthol in *Spilanthes acmella* (L.) Murr. **Phytochem. Anal.** v.21, n.5. p. 438–443, 2010.
- BAKONDI, E. *et al.* Spilanthol Inhibits Inflammatory Transcription Factors and iNOS Expression in Macrophages and Exerts Anti-inflammatory Effects in Dermatitis and Pancreatitis. **International Journal of Molecular Sciences**, v.20, n. 17, p.4308, 2019.
- BALIEIRO, O.C. *et al.* Analytical and preparative chromatographic approaches for extraction of spilanthol from *Acmella oleracea* flowers. **Microchemical Journal**, v.157, 105035, 2020.

BARBOSA, A.F. *et al.* Effects of *Acmella oleracea* Methanolic Extract and Fractions on the Tyrosinase Enzyme. **Rev. Bras. Farmacogn.** v.26, n.3, p. 321–325, 2016.

BARBOSA, N. G. *et al.* Evaluation of laser therapy and alpha-lipoic acid for the treatment of burning mouth syndrome: a randomized clinical trial. **Lasers Med Sci.** v.33; n.6, p.1255-1262, 2018.

BARROS, L. *et al.* Use of HPLC–DAD–ESI/MS to profile phenolic compounds in edible wild greens from Portugal. **Food Chemistry**, v.127, p. 169–173, 2011.

BARRY, A. *et al.* Plasma IL-8 signature correlates with pain and depressive symptomatology in patients with burning mouth syndrome: Results from a pilot study. **Journal of oral pathology & medicine**, v.47, n.2, p.158-165, 2018.

BEIHONG, J. *et al.* Prediction of the binding affinities and selectivity for CB1 and CB2 ligands using homology modeling, molecular docking, molecular dynamics simulations, and MM-PBSA binding free energy calculations. **ACS Chemical Neuroscience**, v.11, n.8, p.1139–1158, 2020.

BERGDAHL, M.; BERGDAHL, J. Burning mouth syndrome: prevalence and associated factors. **J Oral Pathol Med.** v.28, p. 350-54, 1999.

BERMAN, H. M. *et al.* The Protein Data Bank and the Challenge of Structural Genomics. **Nature Structural Biology**, p. 957–959, 2000.

BONACCORSI, P. *et al.* Flavonol Glucoside Profile of Southern Italian Red Onion (*Allium cepa* L.). *J. Agric. Food Chem.* v.53, p. 2733-2740, 2005.

BOONEN, J. *et al.* Alkamid database: Chemistry, occurrence and functionality of plant N-alkylamides. **Journal of Ethnopharmacology**, v.142, n.3, p.563–590, 2012.

BORGES, C. K. G. D; SILVA, C. C. Plantas alimentícias não convencionais (PANC): a divulgação científica das espécies na cidade de Manaus, AM. **Revista Eletrônica Científica Ensino Interdisciplinar**, Mossoró, v. 4, n. 11, 2018.

BORGES, L.S. *et al.* Influence of Organic and Mineral Soil Fertilization on Essential Oil of *Spilanthes oleracea* cv. Jambuarana. **American Journal of Plant Physiology**, v.7, n.3, p. 135-142, 2012.

BORODINA, I. *et al.* The biology of ergothioneine, an antioxidant nutraceutical. **Nutrition Research Reviews**, v. 13, n.2. p. 1-28, 2020.

BORSANI, E. *et al.* Epithelial expression of vanilloid and cannabinoid receptors: a potential role in burning mouth syndrome pathogenesis. **Histol Histopathol.** v. 29, n.4, p. 523-33, 2014.

BOUCHER, Y. Psycho-stomatodynia. **J Oral Med Oral Surg.** v.25, n.1, p. 2-7, 2019.

BRASIL. Resolução RDC nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF, 03 mai. 1999.

BRASIL. *Acmella* in Flora do Brasil em construção. Jardim Botânico. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB15913>>. Acesso em 01 mar. 2020.

BRASIL. Tabela Nacional Brasileira de Composição de Alimentos. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Rio de Janeiro. 1981.

BRASIL. Guia Alimentar para População Brasileira. Ministério da Saúde. 2. Ed. Brasília, 2014.

BRAUD A, BOUCHER Y. The relationship between the clinical features of idiopathic burning mouth syndrome and self-perceived quality of life. **J Oral Sci.** v.58, n.4, p.475–481, 2016.

BRYK, M.; STAROWICZ, K. Cannabinoid-based therapy as a future for joint degeneration. Focus on the role of CB2 receptor in the arthritis progression and pain: an updated review. **Pharmacological reports**, v.73, n.1, 2021.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I.C. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v.51, p.15–25, 2013.

CHAKRABORTY, A. *et al.* Preliminary studies on anti-inflammatory and analgesic activities of *Spilanthes acmella* in experimental animal models. **Indian J Pharmacol.** v.36, n. 3, p.148-150, 2004.

CHAKRABORTY, A. *et al.* Preliminary studies on local anesthetic and antipyretic activities of *Spilanthes acmella* Murr. in experimental animal models. **Indian Journal of Pharmacology**, v.42, n.5, p. 277-279, 2010.

CHEE, T. L. *et al.* Herbal Extract Decolourization Device Using Activated Carbon. **Jurnal Teknologi**, v.61, n.1, p. 73–79, 2013.

CHENG, Y.B. *et al.* Alkylamides of *Acmella oleracea*. **Molecules**, v.20, n.4. p. 6970–6977, 2015.

CILIA-LÓPEZ, V.G. *et al.* Analgesic activity of *Heliopsis longipes* and its effect on the nervous system. **Pharm Biol.** v.48, p.195-200, 2010.

ČIŽAUSKAITĖ, U. *et al.* Natural Ingredients-Based Gummy Bear Composition Designed According to Texture Analysis and Sensory Evaluation In Vivo. **Molecules**, v.24, n.7, p.1442, 2019.

CORDEIRO, M. E. R. *et al.* Quercetin action on pain modulation. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.4, p.43616-4363, 2021.

CUI, Y. *et al.* Efficacy evaluation of clonazepam for symptom remission in burning mouth syndrome: a meta-analysis. **Oral Diseases**, v.22, n. 6, p.503-511, 2016.

CURRIE, C. C.; JÄÄSKELÄINEN, S. K. Burning mouth syndrome: a review. **Oral Surgery**, v.13, p.379-388, 2020.

DALLAZEN, J. L. *et al.* Distinct mechanisms underlying local antinociceptive and pronociceptive effects of natural alkylamides from *Acmella oleracea* compared to synthetic isobutylalkyl amide. **Fitoterapia**. v.131, p. 225-235, 2018.

DALLAZEN, J. L. *et al.* Pharmacological potential of alkylamides from *Acmella oleracea* flowers and synthetic isobutylalkyl amide to treat inflammatory pain. **Inflammopharmacology**, v.28, n.1, p. 175-186, 2019.

DE LA ROSA-LUGO, M. *et al.* Antinociceptive effect of natural and synthetic alkamides involves TRPV1 receptors. **J. Pharm. Pharmacol.** v. 69, n.7, p. 884–895, 2017.

DE SPIEGELEER, B. *et al.* Skin penetration enhancing properties of the plant N-alkylamide spilanthol. **Journal of Ethnopharmacology**, v.148, n.1, p.117–125, 2013.

DEFELICE, S.L. The nutraceutical revolution: its impact on food industry R&D. Trends in **Food Science and Technology**, v. 6, n.2, p.59-61, 1995.

DILLE, M. J., DRAGET, K. I.; HATTREM, M. N. The effect of filler particles on the texture of food gels. **Modifying Food Texture, Woodhead Publishing**, v.1, p.183–200, 2015.

DILLE, M. J.; HATTREM, M. N.; DRAGET, K. I. Soft, chewable gelatin-based pharmaceutical oral formulations: a technical approach. **Pharmaceutical Development and Technology**, v.23, n.5, p. 504–511, 2017.

DILLE, M. J.; HATTREM, M. N.; DRAGET, K. I. Bioactively filled gelatin gels; challenges and opportunities. **Food Hydrocolloids**, v.76, p.17–29, 2018.

DUBEY, S. *et al.* Phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Spilanthes acmella*: a review. **Adv Pharmacol Sci.** v. 2013, p. 9, 2013.

DUX, M.; SANTHA, P.; JANCOS, G. The role of chemosensitive afferent nerves and TRP ion channels in the pathomechanism of headaches. **Pflugers Archiv-European Journal of Physiology**, v. 464, n. 3, p. 239-248, 2012.

DYM, H.; LIN, S.; THAKKAR, J. Neuropathic Pain and Burning Mouth Syndrome. **Dental Clinics of North America**, v.64, n.2, p.379–399, 2020.

ELUFIOYE, T.O.; HABTEMARIAM, S.; ADEJARE, A. Chemistry and Pharmacology of Alkylamides from Natural Origin. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v.30, p.622–640, 2020.

FABRE, N. *et al.* Determination of Flavone, Flavonol, and Flavanone Aglycones by Negative Ion Liquid Chromatography Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry. **J Am Soc Mass Spectrom.** v. 12, p. 707–715, 2001.

FEMA. Flavors and Extracts Manufacturers of the United States. Safety Assessment of Jambu Oleoresin. **Washington**, D.C. p. 12. 2000.

FOOX, M.; ZILBERMAN, M. Drug delivery from gelatin-based systems. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 12, n.9, p.1547-63, 2015.

FORSSELL, H. *et al.* Pain and pain behavior in burning mouth syndrome: a pain diary study. **J Orofac Pain**. v.26, n.2, p.117-25, 2012.

FREILICH, J. E. *et al.* Burning Mouth Syndrome: A Diagnostic Challenge. **Cirurgia Oral, Medicina Oral, Patologia Oral e Radiologia Oral**, v.129, n.2, p.120-124, 2020.

FREITAS-BLANCO, V. S. *et al.* Development and Evaluation of a Novel Mucoadhesive Film Containing *Acmella oleracea* Extract for Oral Mucosa Topical Anesthesia. **PLoS one**, v.11, n.9, p. e0162850, 2016.

GALLI, F. *et al.* Role of psychological factors in burning mouth syndrome: A systematic review and meta-analysis. **Cephalalgia**, v.37, n.3, p. 265-277, 2017.

GAO, J. *et al.* A case-control study on etiological factors involved in patients with burning mouth syndrome. **J Oral Pathol Med**. v.38, n.1, p. 24–28, 2009.

GAO, Y. *et al.* TRPV1 Structures in Nanodiscs Reveal Mechanisms of Ligand and Lipid Action. *Nature*. v.534, n.7607, p.347–351, 2016.

GERARDI, C. *et al.* Anti-proliferative, anti-inflammatory and antimutagenic activities of a *Prunus mahaleb* L. anthocyanin-rich fruit extract. **Journal of Functional Foods**, v. 27, p. 537-548, 2016.

GHAHREMAN, F. *et al.* Polycaprolactone–Gelatin Membranes in Controlled Drug Delivery of 5-Fluorouracil. **Polymer Science Series**. v.62, n.6, p.636-647, 2020.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOMES, A.S; MAGNUS, K; SOUZA, A.H. Riscos e benefícios do uso de nutracêuticos para a promoção da saúde. **Revista Saúde e Desenvolvimento**. v.11, n.9, 2017.

GOMES, F. P. *et al.* Comparison of powdered and fresh jambu (*Acmella oleracea*). **Heliyon**. v. 6, n.11, p.05349, 2020.

GONÇALVES, A.E. *et al.* Protective Effect of *Acmella Ciliata* Extract and Spilanthol in Streptozotocin-induced Sporadic Alzheimer's Disease Mouse Model: Possible Involvement of the of Decreased Oxidative Stress by Activating TRPV1 Receptors. Arquivo pré-impresso. DOI: 10.21203 / rs.3.rs-282279 / v1. Licença CC BY 4.0.

GONÇALVES, R.F.S. *et al.* Advances in nutraceutical delivery systems: from formulation design for bioavailability enhancement to efficacy and safety evaluation. **Trends in Food Science and Technology**, v.78, n.22. p. 270-291, 2018.

GONZALES, G. B. *et al.* Liquid chromatography–mass spectrometry coupled with multivariate analysis for the characterization and discrimination of extractable and nonextractable polyphenols and glucosinolates from red cabbage and Brussels sprout waste streams. **Journal of Chromatography A**. v. 1402, p. 60–70, 2015.

GRUSHKA, M.; EPSTEIN, J.B.; GORSKY, M. Burning mouth syndrome. **Am Fam Physician**. v.65, n. 4, p. 615-20. 2002.

GUINDON, J.; HOHMANN, A. G. Cannabinoid CB₂ receptors: a therapeutic target for the treatment of inflammatory and neuropathic pain. **British Journal of Pharmacology**, v. 153, n. 2, p. 319-334, 2008.

GUPTA, S. *et al.* Modulation of Transient Receptor Potential Vanilloid Subtype 1 (TRPV1) and Norepinephrine Transporters (NET) Protect Against Oxidative Stress, Cellular Injury, and Vascular Dementia. **Curr Neurovasc Res**. v.11, n.2, p. 94-106, 2014.

HECKMANN, S.M. *et al.* A double-blind study on clonazepam in patients with burning mouth syndrome. **The Laryngoscope**. v.122, n.4, p.813–816, 2012.

HOLETZ, F. B. *et al.* Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, n. 7, p.1027–1031, 2002.

HOLZER, P. The pharmacological challenge to tame the transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) nociceptor. **British Journal of Pharmacology**, v. 155, n. 8, p. 1145-1162, 2008.

HOMMA, A. K. O. Etnocultivo do jambu para abastecimento da cidade de Belém, Estado do Pará. **Amazônia: Ciência e Desenvolvimento**, Belém. v. 6.n. 12. p. 125-141. 2011.

HUANG, W.C. *et al.* Spilanthol Inhibits COX-2 and ICAM-1 Expression via Suppression of NF- κ B and MAPK Signaling in Interleukin-1 β -Stimulated Human Lung Epithelial Cells. **Inflammation**, v.41, n.5, p.1934-1944, 2018.

IHS, Headache Classification Committee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders. **Cephalalgia**, v. 38, p.1-211, 2018.

IMAMURA, Y. *et al.* An updated review on pathophysiology and management of burning mouth syndrome with endocrinological, psychological and neuropathic perspectives. **Journal of Oral Rehabilitation**, v.46, n. 6, p.574–587, 2019.

ISKANDAR, I. *et al.* Efficacy and Tolerability of A Nutraceutical Combination of Red Yeast Rice, Guggulipid, and Chromium Picolinate Evaluated in A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Study. **Complementary Therapies in Medicine**, v.48, p.e102282, 2020.

JÄÄSKELÄINEN, S.K. Pathophysiology of primary burning mouth syndrome. **Clinical Neurophysiology**, v.123, n.1, p. 71–77, 2012.

JÄÄSKELÄINEN, S. K.; WODA, A. Burning mouth syndrome. **Cephalalgia**, v.37, n.7, p.627–647, 2017.

JÄÄSKELÄINEN, S. K. Is burning mouth syndrome a neuropathic pain condition? **PAIN**, v.59, n.3, p.610-613, 2018.

JAYANT, S.; SHARMA, B.M.; SHARMA, B. Protective effect of transient receptor potential vanilloid subtype 1 (TRPV1) modulator, against behavioral, biochemical and structural damage in experimental models of Alzheimer's disease. **Brain Res.** v.1642, p. 397-408, 2016.

JAKIMIUK, K.; WINK, M.; TOMCZYK, M. Flavonoids of the Caryophyllaceae. **Phytochem Ver.** 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09755-3>

JONES, D. N.; CABALLERO, S.; DAVIDOV-PARDO, G. Bioavailability of nanotechnology-based bioactives and nutraceuticals. **Advances in food and nutrition research**, v.88, p.235-273, 2019.

JØRGENSE, M. R; PEDERSEN, A. M.L. Analgesic effect of topical oral capsaicin gel in burning mouth syndrome. **Acta Odontologica Scandinavica**, v.75, n.2, p.1-7, 2016.

KIM, M.J.; KHO, H.S. Understanding of Burning Mouth Syndrome Based on Psychological Aspects. The Chinese journal of dental research: the official journal of the Scientific Section of the Chinese Stomatological Association - **CSA**, v.21, n.1. p. 9-19, 2018.

KINSEY, S. G. *et al.* The CB2 cannabinoid receptor-selective agonist O-3223 reduces pain and inflammation without apparent cannabinoid behavioral effects. **Neuropharmacology**, v. 60, n. 2, p. 244-251, 2011.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. São Paulo: **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, 1 ed., p. 768, 2014.

KLEIN, B. *et al.* Síndrome de Burning Mouth. **Dermatologic Clinics**, v.38, n.4, p.477-483, 2020.

KOHORST, J. J. *et al.* The prevalence of burning mouth syndrome: a population-based study. **The British journal of dermatology**, v. 172, n.6, p.1654–1656, 2015.

KOLKKA, M. *et al.* Neurophysiology and genetics of burning mouth syndrome. **European Journal of Pain**, v. 23, n. 6, p.1153-1161, 2019.

KOLKKA-PALOMAA, M. *et al.* Pathophysiology of primary burning mouth syndrome with special focus on taste dysfunction: a review. **Oral Dis.** v.21,n. 8, p.937-48, 2015.

KOMOROWSKA-MÜLLER, J. A.; SCHMÖLE, A-C. CB2 Receptor in Microglia: The Guardian of Self-Control. **Int. J. Mol. Sci.** v.22, n.1, p. 2-27, 2021.

KUTEN-SHORRER, M. *et al.* Safety and tolerability of topical clonazepam solution for management of oral dysesthesia. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.** v.124, n.2, p.146-151, 2017.

- KVESIC, A. J. *et al.* The effectiveness of acupuncture versus clonazepam in patients with burning mouth syndrome. **Acupunct Med.** v.33, n.4, p.289-292, 2015.
- LAMEY, P. J, LEWIS, M.A. Oral medicine in practice: burning mouth syndrome. **Br Dent J.** v.167, n.6, p.197–200, 1989.
- LAURIA, G. *et al.* Trigeminal small-fiber sensory neuropathy causes burning mouth syndrome. **PAIN**, v. 115, n.3, p.332-337, 2005.
- LEENA, M. M. *et al.* Chapter 9, Electrospraying and spinning techniques: fabrication and its potential applications. In: Parthasarathi, S., Anandharamakrishnan, C. (Eds.), **Food Nanotechnology: Principles and Applications**, p. 187-216, 2019.
- LEENA, M.M. *et al.* Nanoencapsulation of nutraceutical ingredients. **Biopolymer-Based Formulations**, p.311–352, 2020.
- LEY, J. P. *et al.* Structure-activity relationships of trigeminal affects for artificial an naturally occurring alkamides related to spilanthol. **Dev Food Sci.** v.43, p 21–24, 2006.
- LIEBERMAN, J. A. Dopamine partial agonists: a new class of antipsychotic. **CNS Drugs**, v. 18, n.4, p. 251-67, 2004.
- LIMA, E. N. A. *et al.* Comparative Analysis of Psychological, Hormonal, and Genetic Factors Between Burning Mouth Syndrome and Secondary Oral Burning. **Pain Medicine**, v.17, n.9, p.1602-1, 2016.
- LIU, Y. F. *et al.* Burning mouth syndrome: a systematic review of treatments. **Oral Dis.** v.24, n.3, p.325-34, 2018.
- LLORENT-MARTÍNEZ, E. J. *et al.* Lathyrus aureus and Lathyrus pratensis: characterization of phytochemical profiles by liquid chromatography-mass spectrometry and evaluation of their enzyme inhibitory and antioxidant activities. **RSC Advances.** v. 6, n. 92, 2016.
- LÓPEZ-D'ALESSANDRO, E.; ESCOVICH, L. Combination of alpha lipoic acid and gabapentin, its efficacy in the treatment of burning mouth syndrome: A randomized, double-blind, placebo controlled trial. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v.16, n.5, p.635-40, 2011.
- LOPEZ-JORNET, P.*et al.* Salivary Biomarkers and Their Correlation with Pain and Stress in Patients with Burning Mouth Syndrome. **Journal of Clinical Medicine**, v.9, n.4, p.929, 2020.
- LORENZI, H., MATOS F.J.A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2.ed.. Nova Odessa, SP: **Instituto Plantarum**, p.544, 2008.
- LOYOLA, Ana Beatriz Alkmim Teixeira; ANDRADE, Carolina Gonçalves. **Composição anestésica e antisséptica à base de acmella oleracea para pele íntegra.** Depositante: Ana Beatriz Alkmim Teixeira Loyola. BR 102017022753-7A. Depósito:23 out. 2017. Concessão: 05 jul. 2019.
- LUETHGEN, M. *et al.* Changes in taste and smell as an early marker for COVID-19. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 99, p. 8–9, 2020.

MALAN, T.P. *et al.* CB2 cannabinoid receptor agonists: Pain relief without psychoactive effects?. **Curr Opin Pharmacol.** v.3, n.1, p.1–67, 2003.

MARFIL, P. H. M.; ANHÊ, A. C. B. M.; TELIS, V. R. N. Texture and Microstructure of Gelatin/Corn Starch-Based Gummy Confections. **Food Biophysics**, v. 7, n.3, p. 236–243, 2012.

MARIA-FERREIRA, D. *et al.* Rhamnogalacturonan from *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen: Gastroprotective and Ulcer Healing Properties in Rats. **PLoS One**, v. 9, n.1, p. 84762, 2014.

MAVIAH, M. B. J. *et al.* Food Protein-Based Nanodelivery Systems for Hydrophobic and Poorly Soluble Compounds. **AAPS PharmSciTech**, v.21, n.3, p. 101, 2020.

MCDONOUGH, P. *et al.* Neuropathic orofacial pain: cannabinoids as a therapeutic avenue. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.55, p.72-78, 2014.

MCMILLAN, R. *et al.* Interventions for treating burning mouth syndrome. **Cochrane Database Syst Rev.** v.18. n.11, 2016.

MELO, E. A. *et al.* Capacidade antioxidante de frutas. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** v.44, n.2, 2008.

MENDAK-ZIÓŁKO, M.; KONOPKA, T.; BOGUCKI, Z.A. Evaluation of select neurophysiological, clinical and psychological tests for burning mouth syndrome. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.** v. 114, n. 3, p.325-332, 2012.

MERIGO, E. *et al.* Photobiomodulation Therapy in Oral Medicine: A Guide for the Practitioner with Focus on New Possible Protocols. **Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery.** v. 37, n.11, p.669-680, 2019.

MINGUEZ-SANZ, M. P.; SALORT-LLORCA, C.; SILVESTRE-DONAT, F. J. Etiology of burning mouth syndrome: a review and update. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v.16, n.2, p.144–148, 2011.

MITSIKOSTA, D. D., LJUBISAVLJEVC, S., DELIGIANNI, C.I. Refractory burning mouth syndrome: clinical and paraclinical evaluation, comorbiities, treatment and outcome. **J Headache Pain**, v.18, n.1, p.40, 2017.

MOLINATORRES, J. *et al.* Purelyolefinic alkamides in *Heliopsis longipes* and *Acmella (Spilanthes) oppositifolia*. **Biochem Syst Ecol.** v. 24, n.1, p. 27-43, 1996.

MONTIEL, Antonio Ferrer. *et al.* **Compound, cosmetic or pharmaceutical composition, and use of a compound.** Depositante: Antonio Ferrer Montiel. BR112014025396B1. Depósito: 13 abr. 2013. Concessão: 17 mar. 2020.

MOREIRA, F.A. *et al.* Cannabinoid type 1 receptors and transient receptor potential vanilloid type 1 channels in fear and anxiety—two sides of one coin?.**Neuroscience.** v. 204, n.9, 186-192, 2012.

- NAKATANI, N.; NAGASHIMA, M. Pungent alkamides from *Spilanthes acmella* L. var. *oleracea* Clarke. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** v.56, p. 759-762, 1992.
- NASCIMENTO, A.M. *et al.* Gastroprotective Effect and Structure of a Rhamnogalacturonan from *Acmella oleracea*. **Phytochemistry**, v.85, p.137-142, 2013.
- NASCIMENTO, L.E.S. *et al.* Phytochemical profile of different anatomical parts of jambu (*Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen): A comparison between hydroponic and conventional cultivation using PCA and cluster analysis. **Food Chemistry**, v. 332, n. 4, p. 127393, 2020.
- NASRI-HEIR, C. *et al.* The role of sensory input of the chorda tympani nerve and the number of fungiform papillae in burning mouth syndrome. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v.112, n.1, p.65–72, 2011.
- NAVARRO-GONZÁLEZ, I. *et al.* Nutritional Composition and Antioxidant Capacity in Edible Flowers: Characterization of Phenolic Compounds by HPLC-DAD-ESI/MSn. **International Journal of Molecular Sciences**, v.16, n.1, p.805-822, 2015.
- NAYAK, P.A.; NAYAK, U.A.; KHANDELWAL, V. The effect of xylitol on dental caries and oral flora. **Clin Cosmet Invest Dent**. v.6, p.89–94, 2014.
- NETTO, F.O.G. *et al.* Risk factors in burning mouth syndrome: a case–control study based on patient records. **Clinical Oral Investigations**, v.15, n.4, p.571–575, 2010.
- NI RIORDAIN, R. *et al.* Burning mouth syndrome and oral health-related quality of life: is there a change over time? **Oral Dis**. v.16, n. 7, p. 643–647, 2010.
- NILE, S.H.; PARK, S.W. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. **Nutrition**, v.30, n.2, p. 134-144, 2014.
- NOMURA, E. C. *et al.* Antinociceptive effects of ethanolic extract from the flowers of *Acmella oleracea* (L.) R.K Jansen in mice. **J Ethnopharmacol**. v.150, n.2, p. 583-589, 2013.
- OLIVEIRA, C. H. *et al.* Clinical toxicology study of an herbal medicinal extract of *Paullinia cupana*, *Trichilia catigua*, *Ptychopetalum olacoides* and *Zingiber officinale* (Catuama) in healthy volunteers. **Phytother Res**. v.19, n.1, p.54-7, 2005.
- ONODERA, K.; SATOU, K.; HIROTA, H. Evaluations of Molecular Docking Programs for Virtual Screening. *J. Chem. Inf. Model*, v.47, n.4, p.1609–1618, 2007.
- ÖZAKAR, R.S.; KARA, M.; MAMAN, A. Preparation, characterization, and radiation absorption study of bentonite clay included soft chewable lozenge formulations. **Journal of Pharmaceutical Technology**, v. 1, n. 3, p.54-59, 2020.
- PALUMBO, F. S. *et al.* Gellan gum-based delivery systems of therapeutic agents and cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 229, n.4, p. 115430, 2019.
- PEDERSEN, A.M. L. Burning mouth syndrome. **Aktuel Nordisk Odontologi**. v.46, n.1, p. 71-90, 2021.

- PEREIRA, S. R. *et al.* Recent advances in the understanding of the aetiology and therapeutic strategies in burning mouth syndrome: focus on the actions of cannabinoids. **European Journal of Neuroscience**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/ejn.14712>
- PÉRIER, J.M, BOUCHER, Y. History of burning mouth syndrome (1800-1950): A review. **Oral Dis**.v.25, n.2, p.425-38, 2019.
- PEZELJ-RIBARIC, S. *et al.* Proinflammatory cytokine levels in saliva in patients with burning mouth syndrome before and after treatment with low-level laser therapy. **Lasers Med Sci**. v.28, n.1, p.297–301, 2013.
- PHAN, N. H. *et al.* Production of fibrous activated carbons from natural cellulose (jute, coconut) fibers for water treatment applications. **Carbon**. v. 44, p. 2821-2824, 2006.
- PIANOSKI, K. E. *et al.* Identification and Characterization of Bauhinia Species by Spectroscopic and Spectrometric Fingerprints. **Revista Virtual de Química**. v. 2, n. 5, 2020.
- PRACHAYASITTIKUL, S. *et al.* Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. **Molecules**, v.14, n.2, p. 859-867, 2009.
- PRACHAYASITTIKUL, V. *et al.* High therapeutic potential of *Spilanthes acmella*: a review. **Excli J**. v. 12, p.291-312, 2013.
- PRASAD, E. Nutraceuticals market-global opportunity analysis and industry forecast, 2014-2022. Disponível em: <<https://www.alliedmarketresearch.com/nutraceuticals-market>>. Acesso em 8 mar. 2020.
- PUHAKKA, A. *et al.* Peripheral nervous system involvement in primary burning mouth syndrome - results of a pilot study. **Oral Diseases**, v.21, n.8, p.338-344, 2016.
- RAMÍREZ-BARRANTES, R.; MARCHANT, I; OLIVERO, P. TRPV1 may increase the effectiveness of estrogen therapy on neuroprotection and neuroregeneration. **Neural Regeneration Research**. v.11, n. 8, p. 1204-1207, 2016.
- REGADAS, R. P. **Efeito do creme de jambu (*Acmella oleracea*) sobre a função sexual masculina e feminina**. 2008. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2008.
- REN, J.N. *et al.* Study on the optimization of the decolorization of orange essential oil. **Food Science and Biotechnology**, v.27, n. 4, p. 929–938, 2018.
- REZAZADEHF, F. *et al.* The Association between Emotional Stress, Sleep Disturbance, Depression, and Burning Mouth Syndrome. **BioMed Research International**, v. 2021, n.4, p.1-6, 2021.
- RIOS, M.Y, AGUILAR-GUADARRAMA, A.B.; GUTIÉRREZ, M.D.C. Analgesic activity of affinin, an alkalamide from *Heliopsis longipes* (Compositae). **J Ethnopharmacol**.v.110, n.2, p.364-367, 2007.

RITCHIE, A, KRAMER, J. M. Recent advances in the etiology and treatment of burning mouth syndrome. **J Dent Res.** v. 97, n.11, p.1193-9, 2018.

RODRIGUES, T. S. *et al.* Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.13, p.587-590, 2011.

RONDANELLI, M. *et al.* *Acmella oleracea* for pain management. **Fitoterapia**, v.140, p. 104419, 2020.

SAITO, V. M.; WOTJAK, C. T.; MOREIRA, F.A. Exploração farmacológica do sistema endocanabinoide: novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão? **Revista Brasileira de Psiquiatria.** v.32, n.1, p. 57-514, 2010.

SAMARANAYAKA, A.G.P; LI-CHAN, E.C.Y., ‘Food-derived peptidic antioxidants: a review of their production, assessment, and potential applications’. **Journal of Functional Foods**, v.3, n. 4, p.229–254, 2011.

SÁNCHEZ, B. P. *et al.* Alpha lipoic acid efficacy in burning mouth syndrome. A controlled clinical trial. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.** v.20, n.4, p.435-440, 2015.

SANTOS, C. P. *et al.* A importância da utilização da espécie *Acmella oleracea* L. **J. Biotechnol. Biodivers.** v.7, n.4, p. 481-485, 2019.

SANTOS, L. F. *et al.* Phototherapy on the Treatment of Burning Mouth Syndrome: A Prospective Analysis of 20 Cases. **Photochem Photobiol.** v.91, n.5, p.1231-1236, 2015.

SANTOS, O. F. *et al.* Physicochemical properties and bioactive composition of the lyophilized *Acmella oleracea* powder. **Journal of Food Processing and Preservation.** v.45, n. 4, p.15354, 2021.

SAVIC, S. *et al.* Identification and photostability of N-alkylamides from *Acmella oleracea* extract. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.** v.195, n.2, p. 113819, 2021.

SCALA, A. *et al.* Update on burning mouth syndrome: overview and patient management. **Crit Rev Oral Biol Med.** v.14, n. 4, p.275-291, 2003.

SCB. Prices Santa Cruz Biotechnology. Disponível: < <https://www.scbt.com/p/spilanthol-a-mixture-of-2e-6z-8e-2e-6e-8e-2e-6z-8z-25394-57-4?requestFrom=search>>. Acesso 12 de mar. 2021.

SCHÖBEL, N. *et al.* Sweet taste and chorda tympani transection alter capsaicin-induced lingual pain perception in adult human subjects. **Physiology & Behavior**, v.107, n.3, p.368–373, 2012.

SHARMA, V. *et al.* *Spilanthus acmella* ethanolic flower extract: LC-MS alkylamide profiling and its effects on sexual behavior in male rats. **Phytomedicine**, v. 18, n. 13, p. 1161–1169, 2011.

- SHARMA, R. *et al.* Evaluation of biologically active secondary metabolites isolated from the toothache plant *Acmella ciliata* (Asteraceae). **Advances in Traditional Medicine**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13596-021-00584-5>
- SILVA, B. N. *et al.* Extraction, Chemical Characterization, and Antioxidant Activity of Bioactive Plant Extracts. **Proceedings**, v.70, n.62, p. 2-6, 2021.
- SILVEIRA, N.; SANDJO, L.P.; BIAVATTI, M.W. Spilanthol-Containing Products: A Patent Review (1996–2016). **Trends Food Sci. Technol.** v.74, n.13, p.107–111, 2018.
- SILVESTRE, F.J. *et al.* Application of a capsaicin rinse in the treatment of burning mouth syndrome. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v.17, n.1, p.1-4, 2012.
- SIMIRGIOTIS, M. J. *et al.* Antioxidant Capacities and Analysis of Phenolic Compounds in Three Endemic Nolana Species by HPLC-PDA-ESI-MS. **Molecules**. v. 20, n. 6, 2015.
- SIMÕES, V. N. *et al.* Síntese, caracterização e estudo das propriedades de um novo complexo mononuclear contendo quercetina e íon Ga(III). **Quím. Nova**. v. 36, n.4, p. 495-501, 2013.
- SIMON, N, AZORIN, J. M. Aripiprazole as dopamine partial agonist model: Basic concepts and clinical impact. **Encephale**. v.44, n.6, p.558-564, 2018.
- ŚLEBIODA, Z. *et al.* Evaluation of the efficacy of treatment modalities in burning mouth syndrome-A systematic review. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 47, n.11, p.1435-1447, 2020.
- DE SOUZA, G. C. *et al.* Acute Toxicity of the Hydroethanolic Extract of the Flowers of *Acmella oleracea* L. in Zebrafish (*Danio rerio*): Behavioral and Histopathological Studies. **Pharmaceuticals**, v. 12, n.4, p.173, 2019.
- SPANEMBERG, J. C, *et al.* Effect of an herbal compound for treatment of burning mouth syndrome: randomized, controlled, double-blind clinical trial. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol**. v.113, n.3, p.373-7, 2012.
- SPANEMBERG, J. C. *et al.* Low-level laser therapy in patients with Burning Mouth Syndrome: A double-blind, randomized, controlled clinical trial. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v.11, n.2, p.162–169, 2019.
- STEIN, R. *et al.* Chymase inhibition: A key factor in the anti-inflammatory activity of ethanolic extracts and spilanthol isolated from *Acmella oleracea*. **J Ethnopharmacol**. v. 270, p.113610, 2021.
- STRINGHETA, P. C. *et al.* Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v.43, n.2, p.181-194, 2007.
- SUWANJANG, W. *et al.* Neuroprotective effect of *Spilanthes acmella* Murr. on pesticide-induced neuronal cells death. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.10, n.1, p.35–41, 2017.

- TAIT, R.C.; FERGUSON, M.; HERNDON, C.M. Chronic Orofacial Pain: Burning Mouth Syndrome and Other Neuropathic Disorders. **Journal of pain management & medicine**, v.3, n.1, p.120, 2017.
- TAMMIALA-SALONEN, T.; HIIDENKARI, T.; PARVINEN, T. Burning mouth in a Finnish adult population. **Community Dent Oral Epidemiol.** v.21, n.2, p.67-71, 1993.
- THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. MOLDOCK. A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. **J. Med. Chem.** v. 49, n.11, p.3315–3321, 2006.
- TOKURA, T. *et al.* Temperament and character profiles of patients with burning mouth syndrome. **J Psychosom Res.** v.78, n. 5, p.495–498, 2015.
- TOMCHINSKY, B.; MING, L. C. As plantas comestíveis no Brasil dos séculos XVI e XVII segundo relatos de época. **Rodriguésia**, v. 70, 2019.
- TRELDAL, C. *et al.* Effect of a local anesthetic lozenge in relief of symptoms in burning mouth syndrome. **Oral Diseases**, v. 22, n. 2, p.123–131, 2016.
- TRELDAL, C. *et al.* Characterization of burning mouth syndrome profiles based on response to a local anaesthetic lozenge. **Oral Diseases**, v. 26, n. 3, p. 656-669, 2019.
- TU, T. T. H. *et al.* Current management strategies for the pain of elderly patients with burning mouth syndrome: a critical review. **BioPsychoSocial Medicine**, v. 13, n.1, p. 2-4, 2019.
- TVARIJONAVICIUTE, A. *et al.* Evaluation of salivary oxidate stress biomarkers, nitric oxide and C-reactive protein in patients with oral lichen planus and burning mouth syndrome. **Journal of oral pathology & medicine**, v.46, n. 5, p.387-392, 2017.
- USHIKOSHI-NAKAYAMA, R. *et al.* Effect of gummy candy containing ubiquinol on secretion of saliva: A randomized, double-blind, placebo-controlled parallel-group comparative study and an in vitro study. **PLoS One**, v.14, n.4, p. e0214495, 2019.
- UTHPALA, T. G. G.; NAVARATNE, S. B. *Acmella oleracea* Plant; Identification, Applications and Use as an Emerging Food Source - Review. **Food Reviews International**, v.37, n.4, p.1–16, 2020.
- VAN DER WAAL, I. Nonlocal Causes and Diseases That May Be Associated with Burning-Mouth-Disease-Like Symptoms. **Burning Mouth Disease**, p.53-67, 2021.
- VERYSER, L. *et al.* N-alkylamides: from plant to brain. **Func. Foods Health Dis.** v. 4, n.6, p. 264-275, 2014.
- VYKLICKÝ, L. *et al.* Calcium-dependent desensitization of vanilloid receptor TRPV1: a mechanism possibly involved in analgesia induced by topical application of capsaicin. **Physiol Res.**v.57, n.3, p.59-68, 2008.
- WANG, J. *et al.* Toxicity of the cosmetic preservatives parabens, phenoxyethanol and chlorphenesin on human meibomian gland epithelial cells. **Experimental Eye Research**, v. 196, 2020.

WANG, M. *et al.* Rapid screening and identification of non-target flavonoid components in invasive weeds by LC/MS-IT-TOF. **Analytical Methods**. v. 7, n. 24, 2015.

WEINTRAUB, L. *et al.* Antioxidant Activity and Antiproliferative Effects of *Acmella alba*, *Acmella oleracea*, and *Acmella calirrhiza*. **Biochemistry and Molecular Biology**. v.34, n.1, p.1-1, 2020.

WODA, A.; DAO, T. GREMEAU-RICHARD, C. Steroid dysregulation and stomatodynia (burning mouth syndrome). **J Orofac Pain**, v.23, n.3, p.202-210, 2009.

WOELKART, K. *et al.* The Endocannabinoid System as a Target for Alkamides from *Echinacea angustifolia* Roots. **Planta Med**, v. 71, n.8, p. 701-705, 2005.

WOELKART, K.; BAUER, R. The Role of Alkamides as an Active Principle of *Echinacea*. **Planta Med**. v. 73, n. 7, p. 615-623, 2007.

WOELKART, K.; OUTI, M. H. S. A.; BAUER, R. CB Receptor Ligands from Plants. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 173-186, 2008.

XING, C. *et al.* Cryo-EM Structure of the Human Cannabinoid Receptor CB2-Gi Signaling Complex. **Cell**. v. 180, n.4, p. 645-654, 2020.

XU, J. *et al.* Spilanthol enhances sensitivity to sodium in mouse taste bud cells. **Chemical Senses**. v.44, n. 2, p.91-103, 2019.

YILMAZ, Z. *et al.* Burning mouth syndrome as a trigeminal small fibre neuropathy: Increased heat and capsaicin receptor TRPV1 in nerve fibres correlates with pain score. **J Clin Neuro-sci**. v.14, n.9, p. 864-71, 2007.

ZHOU, C. *et al.* UHPLC-ESI-MS Analysis of Purified Flavonoids Fraction from Stem of *Dendrobium denneum* Paxt. and Its Preliminary Study in Inducing Apoptosis of HepG2 Cells. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v.4, p.1-4, 2018.