

Investigação do potencial antinociceptivo e ansiolítico do extrato etanólico de *Guazuma ulmifolia* Lam. em *Rattus norvegicus*

Investigation of the antinociceptive and anxiolytic potential of the ethanolic extract of *Guazuma ulmifolia* Lam. in *Rattus norvegicus*

Investigación del potencial antinociceptivo y ansiolítico del extracto etanólico de *Guazuma ulmifolia* Lam. en *Rattus norvegicus*

DOI: 10.54033/cadpedv21n8-257

Originals received: 07/26/2024

Acceptance for publication: 08/16/2024

Adolpho Dias Chiacchio

Mestre em Ciências da Saúde - Bioprospecção pela Universidade Federal de Tocantins (UFT)

Instituição: Universidade de Gurupi (UNIRG)

Endereço: Gurupi, Tocantins, Brasil

E-mail: adolphochiacchio@unirg.edu.br

Alice Freitas Costa

Graduanda em Medicina

Instituição: Universidade de Gurupi (UNIRG)

Endereço: Gurupi, Tocantins, Brasil

E-mail: alice.f.costa@unirg.edu.br

Giovana Lis Galvão Ramos

Graduanda em Medicina

Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Endereço: Imperatriz, Maranhão, Brasil

E-mail: giovana.lis@discente.ufma.br

Juliana Barros Fonseca

Graduanda em Medicina

Instituição: Universidade de Gurupi (UNIRG)

Endereço: Gurupi, Tocantins, Brasil

E-mail: juliana.b.fonseca@unirg.edu.br

Sarah Brito de Siqueira

Graduanda em Medicina

Instituição: Universidade de Gurupi (UNIRG)

Endereço: Gurupi, Tocantins, Brasil

E-mail: sarah.b.siqueira@unirg.edu.br

RESUMO

Introdução: As plantas medicinais têm um papel crescente no tratamento de várias doenças, com uma adesão significativa da população mundial. A Organização Mundial da Saúde indica que 68% da população global utiliza plantas medicinais, especialmente para condições como dor e ansiedade. Nesse contexto, a busca por compostos terapêuticos é uma prioridade em muitas pesquisas. Um exemplo notável é a *Guazuma ulmifolia* Lam., planta rica em flavonoides, que apresenta um amplo espectro terapêutico. Este estudo visa avaliar os efeitos ansiolíticos e antinociceptivos da *G. ulmifolia*. **Metodologia:** A coleta da *G. ulmifolia* foi realizada no estado do Tocantins, durante a estação seca. Extratos da casca foram preparados seguindo as diretrizes da Farmacopeia Brasileira. Testes farmacológicos foram realizados em ratos machos, divididos em grupos controle e experimental. O Teste do Labirinto em Cruz Elevado avaliou a atividade ansiolítica, enquanto o Teste de Formalina mediu a atividade antinociceptiva. Todos os procedimentos seguiram normas éticas e regulamentares. **Resultados e discussão:** A *G. ulmifolia* demonstrou um efeito ansiolítico significativo no Teste do Labirinto em Cruz Elevado, com maior número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos, indicando menor ansiedade em comparação ao controle. No Teste de Formalina, observou-se uma redução significativa dos comportamentos associados à dor nociceptiva nos ratos tratados com o extrato, resultado similar ao obtido nos grupos controle. **conclusão:** A *G. ulmifolia* mostra potencial como fitoterápico no tratamento da ansiedade e dor nociceptiva. No entanto, novos estudos são necessários para assegurar sua eficácia e segurança.

Palavras-chave: Ansiolíticos. Extrato Vegetal. Fitoterapia. Plantas Medicinais.

ABSTRACT

Introduction: Medicinal plants play an increasingly important role in the treatment of various diseases, with significant adherence by the global population. The World Health Organization indicates that 68% of the global population uses medicinal plants, especially for conditions such as pain and anxiety. In this context, the search for therapeutic compounds is a priority in many research studies. A notable example is *Guazuma ulmifolia* Lam., a plant rich in flavonoids, which has a broad therapeutic spectrum. This study aims to evaluate the anxiolytic and antinociceptive effects of *G. ulmifolia*. **Methodology:** The collection of *G. ulmifolia* was carried out in the state of Tocantins during the dry season. Bark extracts were prepared following the guidelines of the Brazilian Pharmacopoeia. Pharmacological tests were conducted on male rats, divided into control and experimental groups. The Elevated Plus Maze Test evaluated anxiolytic activity, while the Formalin Test measured antinociceptive activity. All procedures followed ethical and regulatory standards. **Results and discussion:** *G. ulmifolia* demonstrated significant anxiolytic effects in the Elevated Plus Maze Test, with a higher number of entries and time spent in the open arms, indicating reduced anxiety compared to the control group. In the Formalin Test, a significant reduction in nociceptive pain-related behaviors was observed in the rats treated with the extract, showing results similar to those obtained in the control groups. **Conclusion:** *G. ulmifolia* shows potential as a phytotherapeutic

agent in the treatment of anxiety and nociceptive pain. However, further studies are needed to ensure its efficacy and safety.

Keywords: Anxiolytics. Plant extract. Phytotherapy. Medicinal Plants.

RESUMEN

Introducción: Las plantas medicinales desempeñan un papel cada vez más importante en el tratamiento de diversas enfermedades, con una importante aceptación por parte de la población mundial. La Organización Mundial de la Salud indica que el 68% de la población mundial utiliza plantas medicinales, especialmente para afecciones como el dolor y la ansiedad. En este contexto, la búsqueda de compuestos terapéuticos es una prioridad en muchos proyectos de investigación. Un ejemplo notable es *Guazuma ulmifolia* Lam., una planta rica en flavonoides, que tiene un amplio espectro terapéutico. Este estudio pretende evaluar los efectos ansiolíticos y antinociceptivos de *G. ulmifolia*. **Metodología:** *G. ulmifolia* se recolectó en el estado de Tocantins durante la estación seca. Se prepararon extractos de la corteza siguiendo las directrices de la Farmacopea Brasileña. Se realizaron pruebas farmacológicas en ratas macho, divididas en grupos control y experimental. El Test del Laberinto Cruzado Elevado evaluó la actividad ansiolítica, mientras que el Test de la Formalina midió la actividad antinociceptiva. Todos los procedimientos siguieron normas éticas y reglamentarias. **Resultados y discusión:** *G. ulmifolia* mostró un efecto ansiolítico significativo en la Prueba del Laberinto Cruzado Elevado, con un mayor número de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos, lo que indica menos ansiedad en comparación con el control. En el Test de la Formalina, se observó una reducción significativa de los comportamientos asociados al dolor nociceptivo en las ratas tratadas con el extracto, resultado similar al obtenido en los grupos control. **Conclusión:** *G. ulmifolia* muestra potencial como hierba medicinal en el tratamiento de la ansiedad y el dolor nociceptivo. Sin embargo, son necesarios más estudios para garantizar su eficacia y seguridad.

Palabras clave: Ansiolíticos. Extracto Vegetal. Fitoterapia. Plantas Medicinales.

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais estão inseridas na realidade brasileira. Nota-se uma crescente utilização desses recursos no tratamento de inúmeras condições de saúde, além do incentivo de seu uso por parte das políticas governamentais e das mídias sociais (Cavalcante; Reis, 2018; Zago; Moura, 2018). A busca por melhores condições de saúde e qualidade de vida aumentou exponencialmente nos últimos anos, e as plantas medicinais destacam-se como alternativas viáveis

e amplamente utilizadas para a manutenção da saúde e o tratamento de comorbidades (Silva, 2018).

As políticas voltadas à valorização, incentivo e ao acesso seguro e racional das plantas medicinais são um marco na Saúde Pública, a exemplo da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, criada em 2006 (Brasil, 2016), e da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (SUS), aprovada pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2009), criadas visando inserir as práticas terapêuticas fitoterápicas na saúde pública, evidenciando a necessidade de conhecer, apoiar e incorporar essas experiências aos tratamentos (Feitosa *et al.*, 2016).

A Organização Mundial da Saúde aponta que, embora a medicina moderna esteja em constante evolução, a medicina tradicional permanece popular, com 80% da população recorrendo a práticas tradicionais, e desta, 85% utilizam plantas medicinais (Milani, 2023).

A busca pela descoberta de componentes ativos nas plantas, bem como suas propriedades terapêuticas, tem sido um desafio e meta para pesquisadores. Pesquisas no estudo da atividade biológica de extratos vegetais são realizadas por meio de sistemas de ensaio simples, sensíveis e reprodutíveis, importantes para o descobrimento de efeitos específicos (Sá-Filho, *et al.*, 2021).

De acordo com Coradette e colaboradores (2023), o uso de plantas e fitoterápicos pode ser vantajoso quando comparado com produtos sintéticos, pois alguns estudos têm demonstrado que eles podem ser mais eficazes na recuperação da saúde por conta dos seus mecanismos de ação e regulação da atividade homeostática do organismo.

Alguns medicamentos, a exemplo dos benzodiazepínicos e analgésicos opioides, amplamente utilizados na medicina, têm benefícios bem documentados, mas seus efeitos colaterais, como sedação, relaxamento muscular, amnésia anterógrada e dependência física, são significativos. Devido a esses efeitos adversos, muitos pacientes recorrem a terapias complementares, incentivando pesquisas farmacêuticas em busca de alternativas medicinais com efeitos ansiolíticos mais específicos, como plantas medicinais (Portela, *et al.* 2021).

A ansiedade, condição desencadeada por fatores neuroanatômicos e neurofisiológicos, é considerada um estado apreensivo diante de eventos futuros nocivos, unido ao sentimento de preocupação, tensão e desconforto. A ansiedade patológica é definida quando há sofrimento significativo ou prejuízo funcional associado. A síndrome de ansiedade engloba tanto sintomas subjetivos, como medo, preocupações emocionais e despersonalização, quanto objetivos, que incluem sintomas somáticos, como dores abdominais, náuseas, vertigens, boca seca e taquicardia. (Frota, *et al.*, 2022).

No Brasil, a ansiedade tornou-se um problema de saúde pública, devido a sua alta prevalência. (Santos; Silva; Vasconcelos, 2021) A Organização Mundial da Saúde categorizou o país como líder em casos de ansiedade no mundo, atingindo 9,3% da população (Da Fonseca, 2023).

Atualmente, percebe-se uma maior procura pela medicina alternativa a fim de amenizar os sintomas relacionados à ansiedade e os efeitos colaterais relacionados aos medicamentos sintéticos. (Bortoluzzi; Schmitt; Mazur, 2019) Essas plantas são frequentemente utilizadas em infusões, tinturas e medicamentos fitoterápicos (Medeiros *et al.*, 2022). A fitoterapia é particularmente benéfica para pacientes que não toleram os efeitos colaterais dos medicamentos convencionais (Rodrigues *et al.*, 2022). No entanto, é crucial que o uso desses produtos seja orientado por profissionais de saúde, dada a possibilidade de interações medicamentosas (Medrado *et al.*, 2023). A atenção farmacêutica desempenha um papel fundamental na promoção do uso seguro e racional dessas terapias alternativas (Correa *et al.*, 2022).

A nocicepção e a dor são fenômenos complexos que envolvem estruturas do sistema nervoso periférico e central. Estudos recentes têm demonstrado que a nocicepção e as respostas a estímulos dolorosos estão presentes desde as fases iniciais do desenvolvimento, mesmo em recém-nascidos (Taddio, 2004). A experiência dolorosa inclui componentes sensoriais e afetivos, desempenhando os nociceptores um papel crucial na detecção de estímulos nocivos (Galiza de Moraes *et al.*, 2021). O processo de dor envolve sensibilização periférica e central, que pode levar a alterações de longo prazo nos processos celulares através da modulação de genes precoces imediatos como c-fos (Prado; Del Bel,

1998). Dor prolongada ou intensa pode causar importantes modificações anatômicas, eletrofisiológicas e neuroquímicas nas vias nervosas periféricas e nos núcleos envolvidos no processamento sensorial (Herz, 1987). A compreensão destes mecanismos é essencial para melhorar a avaliação, diagnóstico e tratamento da dor (Galiza de Moraes *et al.*, 2021).

A fitoterapia mostra-se promissora no tratamento da dor nociceptiva e na melhoria da qualidade de vida de pacientes com diversas condições associadas a ela. Estudos indicam que os fitoterápicos podem reduzir eficazmente a dor e a inflamação em diversas doenças. Apesar das vantagens, como o estreitamento do vínculo médico-paciente, existem desafios, como o desconhecimento dos profissionais de saúde e a menor oferta no Sistema Único de Saúde. O uso de fitoterápicos é mais prevalente entre mulheres e indivíduos acima de 50 anos (Da Silva *et al.*, 2022).

Uma planta que apresenta potencial nutricional, funcional e como promissor fitoterápico é a *Guazuma ulmifolia* Lamark, que pertencente à família *Malvaceae* (Da Silva *et al.*, 2017), muito conhecida na região do Tocantins, mas amplamente distribuída pelo Brasil, e popularmente chamada de Mutamba, Mutambo, Fruta-de-Macaco, Embira, Embireira e Mutamba Verdadeira (Lorenzi, 2002; Pereira *et al.*, 2019). Considerada uma planta de grande variedade morfológica encontrada no Brasil, apresenta uma capacidade adaptativa aos diversos climas e condições climáticas do país (Cediel-Devia, *et al.* 2019). Sua árvore é semidecídua, podendo atingir de 8 a 30 metros de altura, o diâmetro de seu tronco chega a 60 cm. A copa é densa e larga, seus ramos horizontais e suas folhas agrupadas alternadamente ao longo dos galhos (Carvalho, 2007).

Alguns estudos realizados com extratos da planta apresentaram funções farmacológicas relevantes associadas aos compostos bioativos da *G. ulmifolia*. Pode-se evidenciar, dentre os principais metabólitos presentes na casca da planta, os compostos fenólicos, como flavonóides, proantocianidinas, epicatequinas e taninos. Tais componentes apresentam uma ampla gama de atividades orgânicas, sendo elas antimicrobianas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antiprotozoárias, antidiarreicas, hipoglicemiantes, vasodilatadoras e cardiotônicas. (Tanase *et al.*, 2019).

O uso da *G. ulmifolia* justifica-se pela possibilidade de exploração de compostos ativos que poderão ser aplicados com ação farmacológica ansiolítica e antinociceptiva. Diante disso, o estudo tem como objetivo investigar e descrever o potencial terapêutico da Guazuma.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal da *G. ulmifolia* foi coletado em uma propriedade rural no território do município de Gurupi, no estado do Tocantins, conforme as coordenadas: 11,86825° S, 49,00594°. Ocorreu no período de agosto a novembro de 2022, durante a estação seca, quando a concentração de compostos bioativos tende a ser mais elevada. Foram feitas coletas de cascas da espécie. A amostra coletada foi enviada ao herbário da Universidade Federal do Tocantins, no campus de Porto Nacional, para assegurar a identificação botânica dos espécimes e registro da exsicata.[

2.2 PREPARAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Foi realizada a extração através da metodologia adaptada da Farmacopeia Brasileira, sua V edição (2010) e Santos et.al (2007). As cascas foram coletadas, selecionadas e colocadas separadamente em sacos plásticos, identificadas, passadas na pesagem na condição fresca, em seguida mergulhadas em água destilada e hipoclorito a 0,5% por 15 minutos no primeiro ciclo, mais 15 minutos em imersão somente com água destilada no segundo ciclo da lavagem. As cascas foram colocadas na estufa de dessecação a 40°C por 4 dias, pela importância da secagem completa do material, e então trituradas em moinho de facas. Após estarem secas e trituradas, foi realizada a maceração de, em média, 300 g de material triturado, diluído em 900 ml de álcool etílico 99,5% (v/v), através da maceração com agitação mecânica durante 5 dias. A filtragem foi realizada por três vezes consecutivas, na garantia do material eficaz. O

produto dessa etapa foi colocado no rotaevaporador para obtenção do extrato puro da casca de *G. ulmifolia*. Posterior a isso, o extrato foi levado à capela de fluxo contínuo para obtenção do extrato seco e acondicionado em tubos de Eppendorf (1,5 mL), armazenados a uma temperatura média de -18 C°.

2.3 TESTES FARMACOLÓGICOS EM MODELOS ANIMAIS

Para a realização dos testes animais foram utilizados ratos da espécie *Rattus norvegicus*, machos, com idade entre 6 e 9 semanas, cedidos pelo biotério da Universidade de Gurupi – UnirG.

Os animais foram classificados e separados por similaridade de peso em gaiolas específicas, todas nas mesmas dimensões. A sala dos animais permaneceu climatizada com temperatura constante entre 21±22°C e ciclo claro-escuro de 12h. A alimentação usada foi a ração comercial padrão e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em dois grupos de 20 animais, cada grupo sendo subdividido em Grupo Controle Positivo 1 (GCP1), Grupo Controle Positivo 2 (GCP2), Grupo Controle Negativo (GCN) e Grupo Experimental (GE), cada grupo com 5 animais. Dessa forma, totalizaram 40 ratos para a execução dos testes.

Todos os testes do trabalho foram devidamente submetidos à aprovação no Comitê de Ética de Uso Animal da Universidade de Gurupi, com número de protocolo de aprovação 004/2022, e seguiu as normas éticas estabelecidas pela Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, que fornece os critérios para procedimentos no uso científico de animais. O estudo seguiu todas as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), as Diretrizes para testes de produtos químicos (Guideline for testing of chemicals – OECD) e a Resolução RDC nº 26 de 13 de maio de 2014 da ANVISA.

Teste do Labirinto em Cruz Elevado (Ansiedade)

O teste é um experimento utilizado para o estudo da neurobiologia da ansiedade que permite avaliação de drogas que tenha atividade ansiolítica ou ansiogênicas (Haller; Alickli, 2012), baseado no comportamento natural de ratos

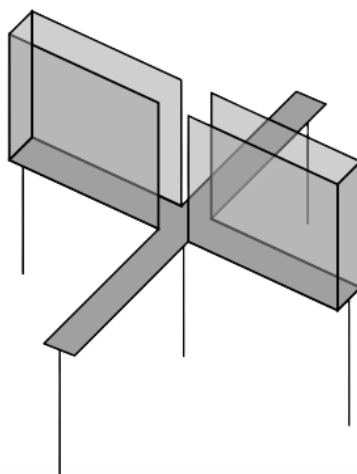
para áreas abertas e elevadas, e comportamento exploratório espontâneo natural em novos ambientes.

Considerado um dos principais modelos de testes para ansiedade, o labirinto em cruz elevado surgiu dos estudos relacionados ao medo e a ansiedade nos anos 50, no laboratório de Montgomery. O teste desperta em sua amostra reações de conflito, medo e curiosidade, que foram observadas comportamentalmente como tendências a esquivar-se da aproximação (Montgomery, 1955). Esse teste é utilizado em animais que se encontram em estado de ansiedade aguda para a investigação de tratamentos eficazes para esta patologia (Paiva, 2022).

O teste foi realizado de acordo com o método proposto por Boerngen-Lacerda e Souza-Formigoni (2000), com um aparato feito de madeira, elevado a 50 cm do solo, constituído de dois braços opostos sem paredes (braços abertos), medindo 50x10 cm, e dois braços opostos com paredes (Braços fechados) de 40 cm de altura, sob iluminação com lâmpada simples vermelha de 60W disposta à 120 cm do aparato.

Os braços abertos e fechados são iguais em dimensões e tamanho, sempre na mesma medida e estão dispostos ao lado uns dos outros, delimitando uma área central com 10 cm².

Imagem 1 – Representação esquemática do labirinto em cruz elevado



Fonte: Autores

Para a realização do teste, os ratos foram colocados na sala de experimentos por uma semana, sob iluminação com lâmpada vermelha (60W) e ciclo claro-escuro invertido. Os animais do Grupo Experimental foram tratados por via intraperitoneal (IP) com doses de 60 mg/Kg do extrato *G. ulmifolia*. Para o Grupo Controle Negativo, foi administrado o tratamento com solução salina em volume correspondente aos demais grupos. Já o Grupo Controle Positivo 1, foi tratado com a administração de Buspirona 20 mg/Kg (IP). O Grupo Controle Positivo 2 foi submetido a Diazepam 30 mg/Kg (IP).

A Buspirona é um bom medicamento para controle da ansiedade, principalmente levando em consideração uma menor gama de efeitos colaterais associados, diferentemente dos benzodiazepínicos (Cohn, Wilcox, 1989). Por sua vez, o diazepam, um benzodiazepínico, demonstrou ter efeitos ansiolíticos e amnésicos no labirinto em T elevado, uma variante do LCE (Graeff, 1993). As premissas supracitadas justificam a escolha destes fármacos como controles positivos do teste.

Após uma hora da administração das soluções teste, os animais foram posicionados na região central do labirinto, de frente para um dos braços abertos, observados por 5 minutos e filmados para análise posterior. As seguintes medidas comportamentais clássicas foram consideradas para análise: número de entradas nos braços abertos; número de entradas nos braços fechados; número total de entradas; tempo de permanência nos braços abertos; tempo de permanência nos braços fechados; e tempo de permanência no centro do LCE, com maior detalhamento na tabela a seguir:

Tabela 1. Parâmetros e índices comportamentais tradicionais e modernos avaliados no teste de labirinto em cruz elevado. (Adaptado de Pinto *et al.*, 2012):

Tempo de latência (ou de permanência) na plataforma ou área central
Tempo gasto nos braços fechados ou abertos
Primeiro sítio escolhido após o início do teste
Porcentagem de tempo gasto nos braços fechados ou abertos em relação ao tempo total de teste
Número total de entradas nos braços abertos e fechados em conjunto
Número de entradas nos braços fechados ou abertos (incluindo a análise para cada braço separadamente)
Porcentagem de entradas nos braços abertos em relação ao número total de entradas
Número total de <i>head-dippings</i> ou <i>head-dips</i>
Ocorrência ou não de micção durante o tempo de teste
Ocorrência ou não de defecação durante o teste
Número de episódios de <i>freezing</i> (ou congelamento)
Número de eventos de <i>grooming</i> (ou autolimpeza)
Número total de eventos de <i>rearing</i>
Ocorrência de quedas a partir do braço aberto e número de quedas

Fonte: Autores

A entrada em um dos braços do labirinto foi considerada somente quando as quatro patas do animal atravessaram o limite daquele braço. A partir do teste, a análise se deu por duas naturezas: espaço temporal e complementar. O espaço-temporal é composto por: Entradas no Braço Aberto (EBA), Tempo no Braço Aberto (TBA), Entradas no Braço Fechado (EBF). Com isso, os resultados são expressos pela conversão em %EBA e %TBA, sendo que a % é feita a partir da EBA ou TBA, dividido pelo número total de entrada nos braços, ou tempo total no aparato (Fernandes, 2019).

Foram consideradas a porcentagem de entradas nos braços abertos e a porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos do LCE, calculadas conforme as seguintes fórmulas: % Entradas nos Braços Abertos = Entradas nos Braços Abertos / (Entradas nos Braços Abertos + Entradas nos Braços Fechados) x 100; % Tempo nos Braços Abertos = Tempo nos Braços Abertos / (Tempo nos Braços Abertos + Tempo nos Braços Fechados) x 100 (Fernandes, 2019).

Para interpretação das variáveis acima foi utilizado um modelo de regressão logística (função *'glm'*), considerando-se a distribuição Poisson, para testar os efeitos dos diferentes grupos nas medidas de ansiedade e dor em ratos. As médias foram comparadas com o teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 0,05. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software R v4.2.3 (R CORE TEAM, 2018).

2.4 TESTE ANTINOCICEPTIVO

O teste de formalina é um método amplamente utilizado para avaliar a nocicepção e os efeitos antinociceptivos em modelos animais. Ele envolve a injeção de formalina na pata de roedores ou em peixes e a observação de suas respostas comportamentais (Wolkers; Pinheiro, 2023). Este teste pode avaliar a dor aguda e persistente, tornando-o valioso para estudar potenciais compostos analgésicos (Bannon; Malmberg, 2007).

No teste da formalina, os ratos divididos em grupos de cinco animais receberam o veículo por via intraperitoneal (IP), exceto o Grupo Controle Positivo 2, que recebeu Ibuprofeno via oral, por gavagem. O Grupo Experimental (GE) recebeu 120 mg/kg do extrato etanólico da *Guazuma ulmifolia* (Mutamba), o Grupo Controle Negativo (GCN) recebeu 3ml de solução salina, o Grupo Controle Positivo 1 (GCP1) recebeu 4 mg/kg de dexametasona e o Grupo Controle Positivo 2 (GCP2) recebeu 50 mg/kg de Ibuprofeno. Após 60 minutos, foram infundidos 20 µL de uma solução de formalina 0,5% via subplantar no membro pélvico direito (pata traseira). Os animais submetidos ao Ibuprofeno via oral receberam a dosagem do medicamento 120 minutos antes do início do teste, para possibilitar a devida absorção.

O uso da Dexametasona como controle positivo justifica-se pela eficácia reconhecida deste medicamento na inibição de inflamação e dor nociceptiva (Morete-Pinto *et al.*, 2021). O ibuprofeno é considerado superior aos opioides, a exemplo do fentanil, para controle desse mesmo tipo de dor (Pennant, 2001), e apresenta um melhor desempenho frente a outros fármacos comumente utilizados contra a dor aguda (Ostenfeld *et al.*, 2011).

Foi cronometrado o tempo em que o animal realizou movimentos de dor, como lambendo-se, sacudir-se ou morder a pata injetada com formalina, no período entre 0-6 minutos após a infusão. A fase analisada é chamada de fase neurogênica e acontece pela ação direta dos nociceptores locais pela formalina (Hunnskaar; Hole, 1987; Padilha *et al.*, 2009).

A porcentagem de inibição do tempo em que se demonstram as ações de dor na pata injetada com formalina foi calculada com a fórmula: porcentagem de inibição = $(100 - Tt/Tc) \times 100$, onde Tt representa uma média do tempo que o animal passou lambendo, sacudindo ou mordendo a pata com formalina no grupo tratado e Tc representa essa média no grupo controle estudado.

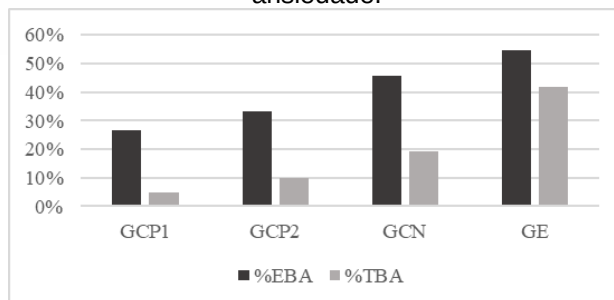
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

A avaliação do efeito ansiolítico do extrato da *G. ulmifolia* em ratos foi realizada por meio do Teste do Labirinto em Cruz Elevado. De início, os animais foram devidamente separados em 4 grupos, cada grupo com 5 animais. Os grupos foram denominados Controle Positivo 1 (Buspirona), Controle Positivo 2 (Diazepam), Controle Negativo (Solução salina), Experimental (*G. ulmifolia*), respectivamente.

Os resultados foram delineados mediante análise do número de entradas nos braços abertos e fechados do labirinto, bem como o tempo de permanência em cada um dos setores do aparato e os traços comportamentais dos animais ao longo do período de observação. Considera-se uma entrada somente quando as quatro patas do animal atravessam o limite de cada braço do labirinto.

Gráfico 1. Percentual de entradas nos braços abertos (%EBA) e percentual de tempo de permanência nos braços abertos (%TBA) do labirinto com ratos após tratamento para ansiedade.



Fonte: Autores

Para a análise estatística propriamente dita, foram considerados os parâmetros: número de Entradas nos Braços Abertos (EBA) e Tempo gasto nos Braços Abertos (TBA). Apesar das demais variáveis oferecerem informações valiosas para a interpretação dos resultados, somente EBA e TBA foram estatisticamente relevantes.

Tabela 2. Número de entradas nos braços abertos (EBA) e tempo de permanência nos braços abertos (TBA) do labirinto com ratos após tratamento para ansiedade.

Grupo	EBA – N (%)	TBA (s)
Controle Positivo 1 (Buspirona)	4 (26,67) D	71,77 D
Controle Positivo 2 (Diazepam)	8 (33,33) C	150,41 C
Controle Negativo (Solução salina)	16 (45,71) A	231,68 B
Experimental (<i>G. ulmifolia</i>)	12 (54,55) B	628,92 A

Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa segundo o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: autores

Para categorizar os dados, as letras A, B, C e D foram utilizadas como classificação para os desempenhos dos grupos em cada variável. A letra A indica o melhor desempenho e a letra D, consequentemente, o pior.

Em termos percentuais, considerando o número total de entradas de cada grupo, os animais do GE apresentaram preferência pelos braços abertos (54,55%), quando comparados os grupos. Os demais obtiveram porcentagens de entradas em braços abertos inferiores a 46%. Em ordem decrescente neste parâmetro, o GE foi seguido pelos grupos GCN (45,71%), GCP2 (33,33%) e GCP1 (26,67%), respectivamente.

A preferência pelos braços abertos do labirinto é uma característica coerente com o comportamento exploratório decorrente da ausência de um estado ansioso (Oliveira *et al.*, 2022).

A coluna TBA(s) exhibe resultados que demonstram um tempo de permanência nos braços abertos expressivamente maior no GE (628,92 s), sugerindo um efeito ansiolítico estatisticamente relevante associado ao extrato etanólico da *Guazuma*. O GCN (231,68 s) permaneceu por um tempo intermediário nos braços abertos.

Em contrapartida, os grupos GCP2 (150,41 s) e GCP1 (71,77 s) permaneceram por tempos significativamente menores nos braços abertos do labirinto, revelando a manutenção de um padrão comportamental possivelmente associado à ansiedade, mesmo após a administração dos medicamentos controle. Contudo, em virtude da insuficiência de estudos acerca das doses específicas de cada medicamento utilizado no teste, esse comportamento pode ser atribuído a um efeito sedativo dos fármacos. Em adição, a eficácia da buspirona em modelos animais apresentou variações para o controle da ansiedade, com resultados contraditórios no LCE (Adrenati; Boerngen-Lacerda, Filho, 2001).

Além disso, ainda que estatisticamente menos relevante, a análise comportamental mostrou desfechos congruentes com os demais dados. O GE expressou um comportamento característico exploratório na maior parte da janela de observação, com menor resposta neurovegetativa, menos episódios de *freezing* e maior ocorrência de *head-dippings*. Segundo File (1978), a prevalência de *head-dips* indica comportamento exploratório, ao contrário do que se observa em casos de *freezing*, micção e defecação. Os animais tratados com solução salina também obtiveram desempenhos similares, deliberadamente ativos. Os demais grupos apresentaram padrões mais contidos e ofegantes. Esta constatação sugere uma melhor supressão do estado de ansiedade nos animais do GE e do GCN.

O potencial ansiolítico da *G. ulmifolia* pode estar associado à presença de compostos bioativos em sua estrutura, como flavonoides e taninos, que justificam a redução de respostas resultantes do comportamento ansioso,

embora os mecanismos não estejam devidamente esclarecidos (DA SILVA *et al.*, 2024). Em consonância, Santos *et al.* (2021) descreve outros metabólitos importantes na planta, que podem proporcionar a inibição da ansiedade, como taninos, alcalóides, polifenóis e saponinas.

3.2 TESTE DA FORMALINA

O Teste da Formalina é uma ferramenta experimental utilizada para avaliar a eficácia dos tratamentos de inibição da dor nociceptiva. Nesta etapa, os animais foram separados em 4 grupos com 5 animais cada e foi realizada a administração das soluções teste. Passado o período de indução dos sintomas, os animais foram observados por 6 minutos, tempo para análise do potencial efeito analgésico de cada um dos produtos.

Para isso, durante a observação, foram protocoladas as atividades associadas à manifestação de dor, como lambidas, mordeduras, balanço da pata acometida, redução do peso corporal sobre ela e elevação da pata. Esses parâmetros indicam o nível de incômodo do animal e, conseqüentemente, a amplitude da diminuição da dor em virtude dos princípios ativos utilizados.

Tabela 3. Número de observações de respostas comportamentais de ratos submetidos a diferentes tratamentos para controle da dor.

Grupo	Lambida na pata	Mordida na pata	Balanço da pata	Redução do peso sobre a pata
Dexametasona	1 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}
Ibuprofeno	<	0	2	0
Solução Salina	0	0	0	11
<i>G. ulmifolia</i>	1	0	0	0

Valores são o total de observações durante os 6 primeiros min após o tratamento. ^{ns}Não significativo a 5% de probabilidade.

Fonte: autores

A Tabela 2 evidencia resultados equivalentes entre os grupos GE e GCP1, possibilitando uma análise estatística ampliada para a demonstração de melhor efeito antinociceptivo destes produtos teste.

Dentre os diversos parâmetros analisados para identificação das manifestações de dor, apenas o movimento de elevação da pata apresentou dados estatisticamente significativos, conforme Tabela 3.

Tabela 4. Efeitos temporais dos tratamentos na frequência de elevação da pata (EP) em ratos após tratamentos para alívio de dor.

Tempo (min)	Dexametasona (GCP1)	Ibuprofeno (GCP2)	Solução salina (GCN)	<i>G. ulmifolia</i> (GE)
1	0 ± 1e-07 cD	13 ± 0,252 bE	42 ± 0,386 aD	14 ± 0,352 bD
2	3 ± 0,418 dD	43 ± 0,460 bA	49 ± 0,218 aB	4 ± 0,188 cE
3	15 ± 0,488 dB	31 ± 0,390 bD	38 ± 0,369 aE	25 ± 0,470 cB
4	12 ± 0,436 dC	39 ± 0,437 bB	47 ± 0,409 aC	37 ± 0,573 cA
5	20 ± 0,563 cA	43 ± 0,458 bA	58 ± 0,452 aA	15 ± 0,364 dD
6	13 ± 0,454 dC	36 ± 0,419 bC	47 ± 0,409 aC	18 ± 0,399 cC

Letras diferentes, minúscula na linha e maiúscula na coluna, indicam diferença significativa segundo o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autores

Para categorizar os dados, as letras (A, a, B, b, C, c, D, d, E, e) foram utilizadas como classificação para a ocorrência de eventos analisados. As letras A e a indicam maior número de EP e as letras E e e, em contrapartida, o menor. Letras minúsculas indicam a comparação entre os quatro grupos em cada minuto de observação. As maiúsculas revelam a comparação entre os resultados de um mesmo grupo a cada minuto de teste.

Diante dos resultados, pode-se observar desfechos compatíveis com o potencial antinociceptivo nos grupos GCP1, GCP2 e GE. O GCN apresentou, durante todo o tempo de observação, maiores manifestações de dor (a), evidenciando o resultado esperado para a solução salina.

O grupo GE demonstrou resultados muito similares aos do GCP1 e superiores aos do GCP2 no quesito antinocicepção, com base no parâmetro analisado.

No primeiro minuto, observa-se melhor ação antinociceptiva da Dexametasona (c). Do segundo ao quarto minuto, os grupos tratados com Dexametasona (d) e *G. ulmifolia* (c) demonstram redução significativa em movimentos de elevação da pata, ou seja, um comportamento compatível com a inibição da dor, diferentemente dos demais grupos (a, b). No quinto minuto do teste, o grupo tratado com o extrato de *G. ulmifolia* obteve os melhores resultados (d), entre todos os grupos. No último minuto, ainda foi possível observar um melhor desempenho dos grupos GCP1 (d) e GE (c).

O GCP1 obteve melhores resultados de antinocicepção nos dois primeiros minutos (D) e resultados moderados no quarto e sexto minuto (C). Aos cinco

minutos de teste, o medicamento demonstrou menor eficácia na redução do comportamento de dor (A).

A Solução Salina mostrou melhores desfechos no primeiro (D) e no terceiro minuto (E), ainda que inferiores aos dos demais grupos, como indicam as letras minúsculas.

O grupo tratado com o extrato de *G. ulmifolia* (GE) obteve um melhor resultado antinociceptivo no segundo minuto, com um índice superior (E) ao encontrado no GCP1 (D). Ao primeiro e ao quinto minuto, a *G. ulmifolia* obteve índices altos (D) de inibição da dor, índices comparados aos melhores obtidos no GCP1. Ao último minuto, ainda foi possível notar uma ação intermediária da solução do GE (C).

O Ibuprofeno apresentou ótimos resultados no minuto inicial (E) e no terceiro (D). Demonstrou ainda uma ação moderada de antinocicepção (C) ao minuto final.

Tem-se, portanto, um desempenho similar entre os grupos GCP1 e GE, que apresentaram maiores potenciais antinociceptivos no comportamento dos animais. O GCP2 obteve respostas intermediárias em redução de dor. O GCN demonstrou atividade antinociceptiva insignificante, validando os efeitos observados nos demais grupos.

A composição fitoquímica da *G. ulmifolia* rica em metabólitos bioativos, como flavonóides, taninos, alcalóides, polifenóis e saponinas, pode justificar a inibição da dor antinociceptiva em roedores, embora os mecanismos desta associação não sejam bem definidos (Da Silva *et al.*, 2024; Santos *et al.*, 2021).

4 CONCLUSÃO

Este estudo confirma o potencial farmacológico da *Guazuma ulmifolia*, o que valida seu uso tradicional e incentiva a exploração sustentável dos recursos terapêuticos da planta. A *G. ulmifolia* demonstrou atingir efeitos ansiolíticos e antinociceptivos estatisticamente próximos aos observados em medicamentos previamente padronizados. Diante das limitações das terapias alopáticas, como o alto custo e a ampla gama de efeitos colaterais e adversos, espera-se um

benefício ainda maior da *Guazuma*, considerando sua biodisponibilidade e o menor impacto de efeitos indesejados inerentes ao uso da planta.

Admite-se uma carência de estudos direcionados à padronização de dosagens dos medicamentos utilizados para estes testes em modelos animais. Quanto ao Extrato, espera-se que esses resultados contribuam para novas pesquisas, definição de doses específicas e desenvolvimento de produtos fitoterápicos inovadores.

REFERÊNCIAS

- ANDREATINI, R.; BOERNGEN-LACERDA, R.; ZORZETTO FILHO, D. Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 23, p. 233-242, 2001.
- BANNON, A. W.; MALBERG, A. B. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. **Curr Protoc Neurosci**. Cap.8. Unidade 8.9. 2007.
- BOERNGEN-LACERDA R.; SOUZA-FORMIGONI, M. L. Does the increase in locomotion induced by etanol indicate its stimulant or anxiolytic properties? Pharmacology, **Biochemistry and Behavior**, Tarrytown, v. 67, n. 02, 2000.
- BORTOLUZZI, M. M.; SCHMITT, V.; MAZUR, C. E. Efeito fitoterápico de plantas medicinais sobre a ansiedade: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 2, p. 47, 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Departamento de Assistência Farmacêutica. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos** / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos; Departamentos de Assistências Farmacêuticas e Insumos Estratégicos – **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos** – Brasília: Ministério da Saúde, 2009, 136 p. II. (Série C. Projetos, Programas e Rel.).
- CARVALHO, P. E. R. **Mutamba – Guazuma ulmifolia**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 13p.
- CAVALCANTE, L. R.; Danielle U.; REIS; M. C. G. Fitoterapia: regulamentação e utilização pela enfermagem. **Revista de Enfermagem FACIPLAC**, Brasília, v. 1, Jan. 2018.
- CEDIEL-DEVIA, D.; SANDOVAL-LOZANO, E.; CASTAÑEDA-SERRANO, R. Effects of different regrowth ages and cutting heights on biomass production, bromatological composition and in vitro digestibility of *Guazuma ulmifolia* foliage. **Agrofor. Syst.**, p. 1–10, 2019.
- COHN, J. B.; WILCOX, C. S. Baixo potencial de sedação da buspirona comparado com alprazolam e lorazepam no tratamento de pacientes com ansiedade: um estudo duplo-cego. **RBM rev. bras. med**, p. 51-4, 1989.
- CORADETTE, C. D. S.; BOLETA-CERANTO, D. de C. F.; VELASQUEZ, L. G. Uso de plantas medicinais no controle do biofilme dental para o tratamento e

prevenção da gengivite-uma revisão. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 27, n. 5, p. 2548-2568, 2023.

CORREA, R. M. dos S. *et al.* Mental health and pharmaceutical services: use of medicinal plants and phytotherapeutic drugs in anxiety disorders. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 6, p. e52911628930, 2022.

DA FONSECA, Pedro Augusto Resende. Transtorno de ansiedade: uma revisão bibliográfica sobre o mal do século XXI. **Revista Contemporânea**, v. 3, n. 8, p. 12669-12677, 2023.

DA SILVA, B. C. S.; COLACITE, J.; DE SOUZA, L. F. A. O uso de fitoterápicos no tratamento da ansiedade: Uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 13, n. 6, p. e11813646095-e11813646095, 2024.

DA SILVA, R. C. A. P. *et al.* Arte de cuidar milenar: crenças e saberes de idosos sobre a fitoterapia. **Temperamentvm: Revista internacional de historia y pensamiento enfermeiro**, 2022.

FEITOSA, M. H. A.; SOARES, L. L.; BORGES, G. A.; ANDRADE, M. M.; COSTA, S. de M. Inserção do Conteúdo Fitoterapia em Cursos da Área de Saúde. **Rev bras educ med** [Internet]. 2016.

FERNANDES, G. J. | **Avaliação do efeito da exposição de camundongos ao Teste de Exposição ao Rato sobre as respostas celulares e comportamentos relacionados a dependência de etanol.** Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, 2019.

FILE, S. E. A ontogenia da exploração no rato: habituação e efeitos do manuseio. **Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology**, v. 11, n. 4, p. 321-328, 1978.

FROTA, I. J. *et al.* Transtornos de ansiedade: histórico, aspectos clínicos e classificações atuais. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 10, n. 1, p. 1-8, 2022.

GALIZA DE MORAIS, M. C.; SILVA, A. M.; GALIZA, F. N. S.; BATISTA B. O.; MATIAS, P. T. A.; LIMA, J. B. G.; LUCENA, L.; PEIXOTO, D. V. G.; The elucidation about mechanisms of Nociception and Pain. **Brazilian Journal of Development**, 2021.

GRAEFF, F. G.; VIANA, M. B.; TOMAZ, C. Elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 26, p. 67-70, 1993.

HALLER, J.; ALICKI, M. Current animal models of anxiety, anxiety disorders, and anxiolytic drugs. **Curr Opin Psychiatry**, v. 25, n. 1, p. 59-64, 2012.

HERZ, A. Opiáceos, opioides e seus receptores na modulação da dor. **Acta neurochirurgica. Supplementum**, v. 38, p. 36-40, 1987.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, n. 1, p. 103-14, 1987.

LORENZI, H. C.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MEDEIROS, G. H.; PEREIRA, J. L.; SANTOS, K. F. dos. The use of herbal medicines in the treatment of anxiety. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 16, p. e439111638643, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i16.38643.

MEDRADO, A. S.; OLIVEIRA, L. F. J.; SANTOS, J. S. O uso de medicamentos produzidos a partir de plantas medicinais para o tratamento de ansiedade. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 12, n. 12, p. e21121243910-e21121243910, 2023.

MILANI, C. M. *et al.* O uso de plantas medicinais na atenção primária à saúde: uma análise preliminar. **CERES – Health & Education Medical Journal**, São José do Rio Preto, v. 1, n. 3, p. 150-160. 2023.

MONTGOMERY, K. C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. **Journal of Comparative Physiology and Psychology**, v. 48, p. 254-260, 1955.

MORAIS, S. M. *et al.* Phenolic composition and antioxidant, anticholinesterase and antibiotic-modulating antifungal activities of *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae) ethanol extract. **South African Journal of Botany**, v. 110, 2017, p. 251-257, ISSN 0254-6299.

MORETE-PINTO, M. C.; SOUSA-CORREA, A. F. Estratégias para o manejo da dor pós-operatória em artroplastia total de joelho: revisão integrativa. **BrJP**, v. 4, p. 245-256, 2021.

OLIVEIRA, I. J. S. *et al.* Ansiedade em ratos submetidos à restrição de espaço no Labirinto em Cruz Elevado. **Amazônia: science & health**, v. 10, n. 4, p. 55-66, 2022.

OSTENFELD, T. *et al.* A randomized, controlled study to investigate the analgesic efficacy of single doses of the cannabinoid receptor-2 agonist GW842166, ibuprofen or placebo in patients with acute pain following third molar tooth extraction. **Clin. J. Pain**, v. 27, p. 668–676, 2011.

PADILHA, M. M. *et al.* Antinociceptive effect of *Morus nigra* leaves in mice. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 6, p. 1381-1385, 2009.

PAIVA, I. L. **Efeitos da paroxetina durante sessões de teste e reteste no labirinto em cruz elevado**. 2022. 51f. Dissertação (Mestrado em

Neurociências) – Instituto do Cérebro, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2022.

PENNANT, J. H. Anestesia para laparoscopia em paciente pediátrico. **Anesthesiology Clinics of North America**, v. 19, n. 1, p. 69-88, 2001.

PEREIRA, G. A.; SILVA, E. K.; PEIXOTO ARAUJO, N. M.; ARRUDA, H. S.; MEIRELES, M. A. A.; PASTORE, G. M. Obtaining a novel mucilage from mutamba seeds exploring different highintensity ultrasound process conditions. **Ultrason. Sonochem**, 2019. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2019.01.010>.

PINTO, W. B. V. de R. *et al.* Teste de labirinto em cruz elevado: aplicações e contribuições no estudo de doenças neuropsiquiátricas em modelos animais. **Rev. Soc. Bras. Ciênc. Anim. Lab**, p. 102-120, 2012.

PORTELA, R. da S.; MARQUES, K. M. S.; MARQUES, B. B.; ROCHA, I. M.; RIBEIRO, L. M.; CARVALHO, A. F. M. de. Ansiolíticos naturais como alternativa no tratamento da ansiedade. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [S. l.], v. 10, n. 8, p. e8710816509, 2021.

PRADO, P. T. C.; DEL BEL, E. A. C-fos, an immediate early gene as a neuromarker for nociception. **Medicina**, Ribeirao Preto, v. 31, p. 424-433, 1998.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018.

RODRIGUES, F. G. V.; FERREIRA, A. M. F.; COSTA, A. C. M.; ALMEIDA, A. C. G. de. Utilização da fitoterapia no tratamento do Transtorno de Ansiedade: revisão sistemática: Uso da fitoterapia no tratamento do Transtorno de Ansiedade. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**, v. 8, n. 12, p. 79381–79393, 2022.

SÁ-FILHO, G. F. S. *et al.* Plantas medicinais utilizadas na Caatinga Brasileira e o potencial terapêutico dos metabólicos secundários: uma revisão. **Research, society and development**, v. 10, n. 13, 2021.

SANTOS, R. da S.; SILVA, S. de S.; VASCONCELOS, T. C. L. de. Aplicação de plantas medicinais no tratamento da ansiedade: uma revisão da literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 52060–52074, 2021.

SILVA, M. I.; OLIVEIRA, H. B. Desenvolvimento de software com orientações sobre o uso de plantas medicinais mais utilizadas do sul de Minas Gerais. **Brazilian Applied Scien-ce**, 2018.

TADDIO, A.; KATZ, J. Pain, opioid tolerance and sensitisation to nociception in the neonate. **Best Pract Res Clin Anaesthesiol.**, v. 18, n. 2, p. 291-302, Jun 2004.

TANASE, C.; MUNTEAN, D.-L. Uma revisão crítica de compostos fenólicos extraídos da casca de plantas vasculares lenhosas e sua potencial atividade biológica. **Molecules**, v. 24, p. 1182, 2019.

<https://doi.org/10.3390/molecules24061182>

WOLKERS, C. P. B.; PINHEIRO, L. R. Uso do teste da formalina para avaliação do potencial antinociceptivo do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) utilizando o peixe *Danio rerio*. **Revista Fitos**, v. 17, n. 3, p. 1-14, 2021.

ZAGO, L. M. S.; MOURA, M. E. P. Vinte e dois anos de pesquisa sobre plantas medicinais: Uma análise cienciométrica. **Tecnia**, Goiânia, v. 3, n. 1, p. 257-173, jan. 2018.