



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**

JOÃO VICTOR BELO DA SILVA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ESTUDO FARMACOLÓGICO DE UMA PLANTA
DO BIOMA CAATINGA COM PROVÁVEL ATIVIDADE ANSIOLÍTICA**

CAMPINA GRANDE – PB

2022

JOÃO VICTOR BELO DA SILVA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ESTUDO FARMACOLÓGICO DE UMA PLANTA
DO BIOMA CAATINGA COM PROVÁVEL ATIVIDADE ANSIOLÍTICA**

Trabalho de conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao Programa de Graduação em
Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba,
como requisito para a obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Área de Concentração: Farmacologia

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros

CAMPINA GRANDE – PB

2022

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.

S586p Silva, Joao Victor Belo da.
Prospecção fitoquímica e estudo farmacológico de uma planta do bioma caatinga com provável atividade ansiolítica [manuscrito] / Joao Victor Belo da Silva. - 2022.
46 p. : il. colorido.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde , 2022.
"Orientação : Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros , Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Erythrina velutina. 2. Atividade ansiolítica. 3. Mulungu. 4. Planta medicinal. I. Título

21. ed. CDD 615.535

JOÃO VICTOR BELO DA SILVA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ESTUDO FARMACOLÓGICO DE UMA PLANTA
DO BIOMA CAATINGA COM PROVÁVEL ATIVIDADE ANSIOLÍTICA**

Trabalho de conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao Programa de Graduação em
Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba,
como requisito para a obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

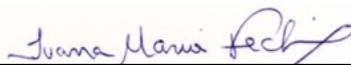
Área de Concentração: Farmacologia

Aprovado em: 20/07/2022

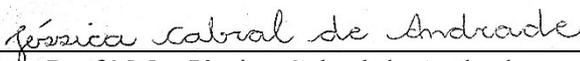
BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.^a Dra. Ivana Maria Fechine
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.^a Me. Jéssica Cabral de Andrade
Faculdade Rebouças de Campina Grande (FRCG)

CAMPINA GRANDE – PB

2022

*Á Deus, fonte inesgotável de amor e a
minha família meu maior bem, DEDICO.*

AGRADECIMENTOS

Ofereço minhas primeiras palavras de gratidão à Deus, por toda força e inspiração que me foi dada até aqui, pelo amparo e por toda misericórdia nos momentos mais difíceis, por renovar a minha fé e me fazer acreditar no impossível. A Ele sou eternamente grato.

Por tão grande amor, apoio e confiança depositados em mim, agradeço à minha família, especialmente aos meus pais Veriano e Lucineide pela dedicação, ensinamentos, companheirismo e incentivos. Seus esforços me fizeram um homem digno, os honrarei por toda vida. Estendo ainda meus agradecimentos à minha amada avó Sebastiana que com seu amor ágape me cuidou. Fostes avó, mãe, sobretudo amiga. Por todo carinho e cumplicidade sou grato, Vó! Agradeço também ao meu avô João Crispim e aos meus avós-paternos: Josefa e João Pirangi (*in-memorian*).

Como exemplo de trajetória acadêmica, agradeço à minha orientadora, Prof.^a Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, que mesmo quando ainda tão imaturo na graduação me acolheu e concedeu a oportunidade de ingressar no LABDEM. Serei eternamente grato por todas as contribuições na minha formação acadêmica e pessoal. Ramifico essa gratidão ao Prof.^o Dr. Felipe Hugo Alencar Fernandes, que por um ano foi meu orientador, agradeço por todo ensinamento e conhecimento transmitido.

Externo também o meu carinho à Prof.^a Dra. Ivana Maria Fechine, por toda parceria e oportunidades que me proporcionou nos quatro anos em que fui seu monitor na disciplina de Farmacologia. Obrigado por sua amizade e por despertar em mim o amor pela Farmacologia. Uma excelente profissional que também contribuiu para a minha formação acadêmica.

Aos meus amigos de infância: Adrielli Soares, Bruno Paulino, Bruna Paulino e em especial, Lucas Batista, que apesar das adversidades partilhou quatro anos dessa trajetória comigo quando vim morar em Campina Grande.

Aos amigos que fiz na UEPB: Rayane, Elizandro, Angélica, Pedro Aquino, Sara, Natália, Renaly, Kamilla, Beatriz, Lucas, Carlos, Nathália, Vimerson, Yasmim, Karen, Brenda, Cadmo, Diego, Jessé, Pedro Amorim, Misael, Vitor, Jonas, Mariana Dantas, Mariana Calixto, Naara, Viviane, Raissa e Anna Júlia.

Agradeço em especial à Allan, Analara, Dayverson, Esdras, Kilma e Sabrinna pelo apoio e cumplicidade, por terem acompanhado de perto essa trajetória e protagonizado junto comigo momentos singulares, fazendo dessa jornada um caminho mais leve.

À minha querida instituição, UEPB por possibilitar a minha formação e ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

*“O sonho é que leva a gente para a frente.
Se a gente for seguir a razão, fica
aquietado, acomodado.”*

Ariano Suassuna

RESUMO

O uso de plantas como profilaxia, tratamento e cura de doenças, tem acompanhado a humanidade ao longo dos anos, ganhando espaço no mercado que outrora estava dominado por produtos industrializados. Na área da psicofarmacologia, alguns transtornos humorais como a ansiedade generalizada, a síndrome do pânico, o transtorno obsessivo-compulsivo e fobias, são exemplos mais comuns de doenças mentais no mundo, as quais tornaram-se instrumentos de pesquisa de grande interesse. Atualmente o tratamento farmacológico para o transtorno de ansiedade consiste no uso de medicamentos que embora mostrem eficácia clínica, apresentam vários efeitos adversos. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a atividade farmacológica do extrato da casca de *Erythrina velutina* Willd, afim de comprovar sua eficácia frente a ansiedade, como a primeira etapa para o desenvolvimento de uma nova formulação farmacêutica. Os extratos hidroalcoólicos foram produzidos pelos métodos de ultrassom e turbólise, em diferentes concentrações de solvente. Em seguida os extratos foram secos por evaporação rotativa e submetidos ao *screening* fitoquímico. A prospecção da atividade ansiolítica do extrato seco de *E. velutina* foi realizada através de testes comportamentais, como Teste em Labirinto cruz elevada (TLCE) e medidas etológicas (espreitas, levantar, autolimpeza e mergulho de cabeça), Teste da Movimentação Espontânea (TME) e teste de barra giratória (*rota rod*). O estudo semiquantitativo dos metabólitos secundários do extrato seco de *E. velutina* revelou que o método capaz de extrair maior quantidade de metabólitos secundários foi a turbólise, utilizando como solvente água:etanol na concentração 30/70 v/v. O teste de toxicidade aguda mostrou que o extrato possui uma dose letal média maior que 2000 mg kg⁻¹, caracterizando o mesmo como substância de baixa toxicidade. O tratamento dos camundongos com o extrato de *E. velutina* revelou que o insumo farmacêutico ativo vegetal possui potencial efeito ansiolítico quando administrado na dose de 250 mg kg⁻¹, além disso no teste de *rota rod* não se observou efeitos miorrelaxantes pela administração do extrato, fato bastante importante, uma vez que esse é um dos principais efeitos adversos proporcionados pelos benzodiazepínicos. Sabendo que a terapia atual com ansiolíticos apresenta muitos problemas, tais como risco de dependência, síndromes de abstinência ou retardo para início do efeito, os resultados obtidos no presente trabalho fornecem importantes informações para futuros estudos clínicos voltados a avaliar o potencial efeito ansiolítico de preparações fitoterápicas de *E. velutina* sobre o distúrbio de ansiedade.

Palavras-Chave: *Erythrina velutina*. Atividade ansiolítica. Planta Medicinal. Mulungu.

ABSTRACT

The use of plants as prophylaxis, treatment and cure of diseases has accompanied humanity over the years, gaining space in the market that was once dominated by industrialized products. In the field of psychopharmacology, some mood disorders such as generalized anxiety, panic syndrome, obsessive-compulsive disorder and phobias are the most common examples of mental illnesses in the world, which have become research instruments of great interest. Currently, the pharmacological treatment for anxiety disorder consists of the use of drugs that, although showing clinical efficacy, have several adverse effects. Therefore, the objective of this study was to evaluate the pharmacological activity of the bark extract of *Erythrina velutina* Willd, in order to prove its effectiveness against anxiety, as the first step for the development of a new pharmaceutical formulation. The hydroalcoholic extracts were produced by ultrasound and turbolysis methods, in different solvent concentrations. Then the extracts were dried by rotary evaporation and submitted to phytochemical screening. The prospection of the anxiolytic activity of the dry extract of *E. velutina* was carried out through behavioral tests, such as the Elevated Cross Labyrinth Test (ELFT) and ethological measures (peeking, lifting, self-cleaning and head diving), Spontaneous Movement Test (SMT) and rotating rod test. The semi-quantitative study of secondary metabolites from the dry extract of *E. velutina* revealed that the method capable of extracting the greatest amount of secondary metabolites was turbolysis, using water:ethanol as a solvent at a concentration of 30/70 v/v. The acute toxicity test showed that the extract has an average lethal dose greater than 2000 mg kg⁻¹, characterizing it as a substance of low toxicity. The treatment of mice with the extract of *E. velutina* revealed that the active vegetable pharmaceutical ingredient has a potential anxiolytic effect when administered at a dose of 250 mg kg⁻¹. This is a very important fact, since this is one of the main adverse effects provided by benzodiazepines. Knowing that current therapy with anxiolytics presents many problems, such as risk of dependence, withdrawal syndromes or delay in onset of effect, the results obtained in the present work provide important information for future clinical studies aimed at evaluating the potential anxiolytic effect of herbal preparations of *E. velutina* on anxiety disorder.

Keywords: *Erythrina velutina*. Anxiolytic activity. Medicinal plant. Mulungu.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Erythrina velutina</i> Willd.....	16
Figura 2 – Teste de labirinto em cruz elevado (TLCE).....	25
Figura 3 – Medidas etiológicas: <i>Rearing</i> (levantar-se).....	26
Figura 4 – Medidas etológicas: <i>Grooming</i> (autolimpeza).....	26
Figura 5 – Medidas etológicas Head dippings (mergulhos de cabeça).....	26
Figura 6 – Teste de movimentação espontânea (TME).....	27
Figura 7 – Barra giratória (<i>rota rod</i>).....	28
Figura 8 – Droga vegetal da casca de <i>Erythrina velutina</i> Willd.....	29
Figura 9 - Efeito da administração oral do <i>EEV</i> em camundongos <i>Swiss</i> na porcentagem do número de entradas nos braços abertos.....	33
Figura 10 - Efeito da administração oral do <i>EEV</i> em camundongos <i>Swiss</i> na porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos.....	34
Figura 11 - Efeito da administração oral do <i>EEV</i> em camundongos <i>Swiss</i> no número de espreitas.....	36
Figura 12 - Efeito da administração oral do <i>EEV</i> em camundongos <i>Swiss</i> no número de mergulhos de cabeça.....	36
Figura 13 – Efeito da administração oral do <i>EEV</i> em camundongos <i>Swiss</i> no número de quadrados percorridos.....	37
Figura 14 – Efeito da administração oral do <i>EEV</i> em camundongos <i>Swiss</i> no número de rearings no TME.....	38
Figura 15 – Efeito da administração oral do <i>EEV</i> em camundongos <i>Swiss</i> no número de groomings no TME.....	38
Figura 16 – Efeito da administração oral do <i>EEV</i> em camundongos <i>Swiss</i> no teste de <i>rota rod</i>	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados obtidos com as curvas de calibração na prospecção fitoquímica.....	30
Tabela 2 - Quantificação de polifenóis totais, flavonoides totais e taninos condensados determinados no extrato hidroalcolico de <i>E. velutina</i>	30
Tabela 3 - Resultados de toxicidade da <i>E. velutina</i>	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
EEV	Extrato de <i>Erythrina Velutina</i>
GABA	Ácido gama-amino-butírico
GHS	Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos
IFAV	Insumo Farmacêutico Ativo Vegetal
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
TLCE	Teste de Labirinto em Cruz Elevado
TME	Teste de Movimentação Espontânea

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo geral	14
2.2	Objetivos específicos	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1	Plantas Medicinais	15
3.2	<i>Erythrina velutina</i> Willd	16
3.3	Ansiedade	17
3.4	Tratamento convencional	18
4	METODOLOGIA	20
4.1	Material vegetal e obtenção dos extratos	20
4.2	Prospecção fitoquímica	20
4.2.1	<i>Determinação do teor de polifenóis totais</i>	21
4.2.2	<i>Determinação de flavonóides totais</i>	21
4.2.3	<i>Determinação do teor de taninos condensados</i>	22
4.3	Local de pesquisa	22
4.4	Animais e aspectos éticos	23
4.5	Toxicidade aguda oral	23
4.6	Atividade ansiolítica	24
4.6.1	<i>Teste de labirinto em cruz elevado (TLCE)</i>	25
4.6.2	<i>Teste de movimentação espontânea (TME)</i>	27
4.6.3	<i>Teste da barra giratória (rota rod)</i>	27
4.7	Análise estatística	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1	Droga vegetal	29
5.2	Prospecção fitoquímica	29
5.3	Prospecção da atividade biológica do extrato seco de <i>E. velutina</i>	31
5.3.1	<i>Toxicidade aguda</i>	31
5.3.2	<i>Atividade ansiolítica</i>	33
6	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS	41
	ANEXOS	45

1 INTRODUÇÃO

Na área da psicofarmacologia, alguns transtornos humorais como a ansiedade generalizada, a síndrome do pânico, o transtorno obsessivo-compulsivo e fobias, são exemplos mais comuns de doenças mentais no mundo, as quais tornaram-se instrumentos de pesquisa de grande interesse (RABBANI et al., 2008). A ansiedade generalizada é caracterizada por doenças crônicas e preocupação persistente, geralmente essa preocupação é multifocal, excessiva e de difícil controle e vem acompanhada por outros sintomas físicos e psicológicos inespecíficos. A ansiedade comumente se intensifica no contexto das pressões, demandas e estresses da vida diária, sendo uma reação natural e adaptativa. (SCHÖNHOFEN, 2020)

Atualmente o tratamento farmacológico para o transtorno de ansiedade consiste no uso de medicamentos que embora mostrem eficácia clínica, apresentam vários efeitos adversos. A exemplo dos benzodiazepínicos, que possuem relativa segurança e podem proporcionar efeitos indesejados, como amnésia, dependência e sedação, que causam considerável preocupação nos pacientes que fazem seu uso. (RAUPP et al., 2008). Dessa forma, faz-se necessária a obtenção de novos insumos farmacêuticos ativo (IFA), com capacidade ansiolítica que não apresentem tais efeitos adversos.

O uso de plantas como profilaxia, tratamento e cura de doenças, tem acompanhado a humanidade ao longo dos anos. Recentemente vem ocorrendo um grande aumento na utilização e procura desses recursos medicinais alternativos, ganhando espaço no mercado que outrora estava dominado por produtos industrializados (BORTOLUZZI et al., 2020). Nos países em desenvolvimento, 65-80% da população depende das plantas medicinais como única maneira de acesso aos cuidados básicos de saúde e em algumas comunidades passam a ser a solução mais acessível em relação aos medicamentos alopáticos (MOTALEB, et al., 2011; NEWMAN; CRAGG, 2013; BORTOLUZZI et al., 2020).

As plantas medicinais apresentam elevada importância para o bem estar na saúde mental e seus componentes ativos ajudam na cura e no tratamento de diversas patologias, ajudando assim na diminuição dos possíveis efeitos provocados com a utilização de drogas sintéticas. Grande parte da população faz uso da fitoterapia, o que pode ser justificado pelo fato dos medicamentos sintéticos apresentarem elevado custo, tornando sua acessibilidade menor, além de possuir efeitos não desejados ao organismo (NÓBREGA et al., 2017).

Dessa forma, carecem estudos que forneçam informações acerca da atividade farmacológica de preparações fitoterápicas das cascas de *E. velutina*, à fim de garantir ou não o uso popular da planta no tratamento de transtornos de ansiedade, assim como contribuir para o desenvolvimento de novos medicamentos fitoterápicos.

Para tanto, o objetivo desse estudo foi avaliar a atividade farmacológica do extrato da casca de *Erythrina velutina* Willd, afim de comprovar sua eficácia frente a ansiedade, como a primeira etapa para o desenvolvimento de uma nova formulação farmacêutica.

Em consonância, os resultados obtidos com essa pesquisa têm como base fundamental a transferência de conhecimentos para a sociedade através das Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde, enfatizando a utilização de medicamentos fitoterápicos e drogas vegetais para serem utilizadas na forma de chá, insumos farmacêuticos ativos vegetais padronizados e seus respectivos usos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar o estudo farmacológico da planta *Erythrina velutina* Willd, com a finalidade de se comprovar a sua atividade ansiolítica.

2.2 Objetivos específicos

- Obter o extrato seco, a partir do extrato hidroalcolico das cascas de *E. velutina*;
- Realizar a prospecção fitoquímica, para quantificação de metabólitos secundários;
- Avaliar o efeito toxicológico não clínico agudo do extrato de *E. velutina*
- Investiga o possível efeito ansiolítico do extrato de *E. velutina*

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Plantas Medicinais

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. O alcance dessas informações coopera para o acúmulo de experiências, buscando a partir do estudo, o aperfeiçoamento e o progresso da ciência na área (DAR et al., 2017). A Organização Mundial de Saúde divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde. (OMS, 2006).

Com o passar dos anos, diferentes procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais têm sido registrados. Embora haja grande evolução da medicina alopática a partir da segunda metade do século XX, existem obstáculos básicos na sua utilização pelas populações carentes, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares à obtenção de exames e medicamentos. Estes motivos, associados com a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento. (VEIGA et al, 2005).

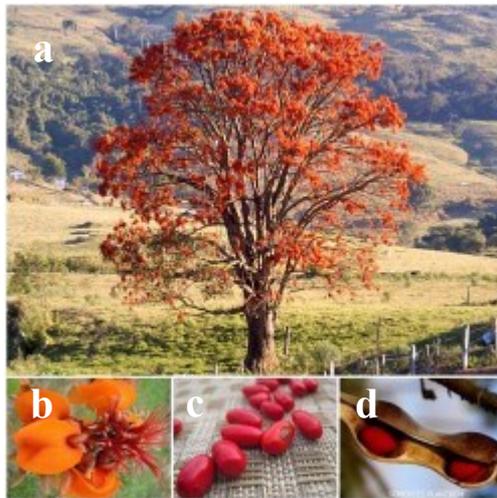
De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2016), plantas medicinais são definidas como espécies vegetais tradicionalmente utilizadas como alternativa para promoção e recuperação da saúde. Esses benefícios terapêuticos são atribuídos à presença de constituintes bioativos, dos quais, muitos são empregados no desenvolvimento e produção de medicamentos. Tendo em vista a grande contribuição das plantas medicinais na história das Ciências da Saúde e elevada biodiversidade vegetal e cultural do Brasil, foi criada a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) em 2006 (BRASIL, 2006).

Várias desvantagens relacionadas à busca de novos fitoterápicos a partir de produtos naturais têm sido superadas através da aplicação de novas tecnologias úteis, desde a realização de estudos químicos, farmacêuticos a farmacológicos. Isso tem permitido o desenvolvimento de fitoterápicos com segurança, eficácia e qualidade comprovadas os quais se destacam no mercado farmacêutico internacional. A transformação de uma planta em um medicamento deve visar à preservação da integridade química e farmacológica do vegetal, garantindo a constância de sua ação biológica e a sua segurança de utilização. Para atingir esses objetivos, a produção de fitoterápicos requer, necessariamente, estudos prévios e multidisciplinares, relativos aos aspectos botânico, agrônômico, fitoquímico, farmacognóstico, farmacológico, toxicológico, de desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas (SILVA, 2018).

3.2 *Erythrina velutina* Willd

Erythrina é um gênero pertencente à família *Leguminosae* (*Fabaceae*), que conta com mais de cem espécies, presentes em regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios. O nome *Erythrina* vem do grego *erythros*, que significa vermelho, referindo-se à cor das flores de diversas espécies desse gênero. Esse grupo possui árvores de porte médio que medem entre 15 a 20 metros de altura, com madeira mole e espinhos triangulares ao longo do tronco, possui flores grandes de cor vermelha ou alaranjada, já as folhas podem medir até 12 cm de comprimento. A árvore (figura 1) produz pequenos frutos do tipo vagem, deiscentes, de 6 a 12 cm de comprimento e coloração marrom. (SCHLEIER; QUIRINO; RAHMEL, 2016).

Figura 1 – (a) *Erythrina velutina* Willd; (b) Flor; (c) semente; (d) fruto.



Fonte: <https://bravosolucoesambientais.com.br/inicio/88-mulungu-erythrina-velutina-willd.html>

Comumente conhecida como Mulungu, entre outros nomes, a *Erythrina velutina* Willd pode ser encontrada na região do semiárido do nordeste do Brasil e tem como principal característica sua resistência à períodos com baixa incidência de chuva, com rápido crescimento e capacidade de fixação de nitrogênio (RIBEIRO et al., 2018). Há anos o uso dessa espécie em algumas comunidades brasileiras para o tratamento de insônia e outros distúrbios do sistema nervoso central é bastante difundido (SILVÂNIA et al., 2007).

Estudos químicos realizados com a casca de *E. velutina* permitiram o isolamento de alcaloides, terpenos, polifenóis e flavonoides. Esses compostos, incluindo flavonóides e ácidos fenólicos, chamam a atenção da comunidade científica devido a sua ampla gama de efeitos farmacológicos, os quais agem como poderosos antioxidantes e anti-inflamatórios. Já, a avaliação toxicológica da planta mostrou baixa toxicidade em ratos, enquanto estudos

farmacológicos clínicos demonstraram atividades ansiolíticas, anticonvulsivantes, antinociceptivas e antiedematogênicas do extrato (SILVA et al., 2016).

Além disso, os extratos hidroalcoólicos das folhas e flores da *E. velutina* apresentam substâncias como açúcares redutores, fenóis, taninos, proteínas e aminoácidos, depsídeos e depsídonas, derivados de cumarina, esteroides e triterpenoides. A saponina espumídica, os esteroides e os triterpenoides são compostos presentes exclusivamente nas folhas. Já os alcaloides foram detectados tanto nas folhas quanto nas inflorescências, enquanto os glicosídeos cardiotônicos e glicosídeos antraquinônicos foram detectados apenas nas inflorescências (PALUMBO et al., 2016)

O uso da *E. velutina* é bastante difundido na medicina popular, de modo que, é realizada administração oral do extrato aquoso (infuso ou decocto) ou de uma tintura (extrato etanol/água) preparada a partir da casca do caule recém-colhida. (TESKE; TRENTINI, 1995; MATOS, 1997). Muitas propriedades farmacológicas da espécie *E. velutina* tem sido investigadas e reportadas na literatura, em vários modelos animais realizados *in vivo*, sendo a atividade ansiolítica a mais referida. (OZAWA et al., 2008)

3.3 Ansiedade

A ansiedade, palavra derivada do grego *agkho* que significa estrangular, sufocar e oprimir, é caracterizada como um estado apreensivo ou amedrontador, de caráter subjetivo, acompanhado por alterações fisiológicas, cognitivas e emocionais. (SILVA, 2020). De acordo com o relatório da OMS (2019), a ansiedade representa um dos transtornos mentais mais prevalentes do mundo, o Brasil tem o maior número de pessoas ansiosas do mundo cerca de 18,6 milhões de brasileiros (9,3% da população). Enquanto que a prevalência mundial do transtorno de ansiedade é de 3,6%. Esse transtorno mental atinge 5,6 % da população no continente americano, alcançando proporções maiores no Brasil, o qual possui o maior número de casos entre todos os países do mundo.

Esta doença se configura como um problema que agrega inúmeros graus de desconforto tanto no âmbito psíquico como físico, sendo esses: sudorese, pensamento acelerado dificuldade em concentração e insônia, essa falta de sono acaba levando a outros problemas de saúde, como problemas cardíacos, doença do pânico. É o efeito dominó de uma série de doenças (SANTOS, et al., 2021).

Pode ser definida como uma emoção orientada ao futuro sobre eventos potencialmente aversivos e/ou perigosos, que gera reações fisiológicas, comportamentais e afetivas que mobilizam o indivíduo para se preparar para possíveis ameaças. Organicamente pode ser expressa como sensação de mal-estar psicológico, traduzido por diversas perturbações somáticas como as cardiorrespiratórias e as gástricas. Está alocada como desordem psíquica, pois ainda não está completamente elucidada. (STEIN, 2015; SCHÖNHOFEN, 2020)

Caracteriza-se por um estado do funcionamento cerebral que está relacionado a problemas externos, que interferem no funcionamento de determinadas fibras nervosas que regulam o estado excitado do sistema nervoso central e gonadotrófico. Essa percepção ativa o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), gerando sintomas autonômicos, como taquicardia, aumento da respiração, tensão muscular e insônia, ativando sistemas cerebrais associados ao sistema simpático (BRAGA et al., 2010).

A ansiedade é considerada normal quando é manifestada por meio de respostas do organismo, e é considerada patológica quando a intensidade ou a frequência não corresponde aos motivos que a desencadeou, ou quando não há motivos aparentes. Quando ela traz sofrimento, desentendimento, prejuízo ao comportamento, fuga de situações importantes é caracterizada como doença (BULASMED, 2016).

3.4 Tratamento convencional

É sabido que na ansiedade ocorre um desequilíbrio entre mediadores estimulantes e depressores do sistema nervoso central, porém, a sua etiologia ainda é um pouco obscura. Desse modo, os fármacos disponíveis não possuem caráter curativo e sim paliativos, atenuando o desequilíbrio experimentado pelo paciente. Por mais que se tenha avançado nos estudos da ansiedade e ansiolíticos, a extrapolação dos dados obtidos em modelos animais de ansiedade para o homem é limitada, impondo grande desafio para descoberta de novos ansiolíticos. (ZANELLATI et al., 2021)

Atualmente o tratamento farmacológico para o transtorno de ansiedade consiste no uso de benzodiazepínicos, buspirona e antidepressivos; no entanto, embora esses tratamentos mostrem eficácia clínica, eles apresentam vários efeitos adversos. Dentre os medicamentos utilizados para tratar transtornos de ansiedade, predominam os estimuladores da neurotransmissão do ácido γ -aminobutírico (GABA) o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central. Os benzodiazepínicos estão entre as primeiras opções, sendo bastante

utilizados nos últimos anos para tratar as diversas formas de ansiedade. (PINHEIRO et al., 2018).

Apesar dos antidepressivos e os ansiolíticos serem instrumentos terapêuticos importantes, a terapia com esses psicotrópicos está sujeita a diversas barreiras como, baixa adesão por intolerância, efeitos adversos, ou contraindicações ao uso (MOCHCOVITCH et al., 2015). Não obstante, na maioria das vezes é necessário o uso prolongado desses medicamentos, o que pode acarretar efeitos profundos no corpo e no cérebro, contribuindo para posterior dificuldade em removê-los, uma vez instalada a dependência física associada a adaptação cerebral. (HOROWITZ et al., 2021).

Nos últimos anos tem-se observado um grande avanço no tratamento dos transtornos da ansiedade. Os indivíduos têm buscado alternativas para lidar com esses sintomas, como recursos para diminuir os efeitos da ansiedade no dia a dia, é recomendado realizar atividade física, fazer terapia, manter uma alimentação saudável, ouvir música, praticar o voluntariado e desenvolver inteligência emocional, essas práticas ajudam as pessoas a desfrutar de uma melhor qualidade de vida, conseqüentemente auxilia no controle da ansiedade (HARAGUCHI et al., 2020).

Por outro lado, há um gargalo relacionado ao tratamento dos Transtornos de Ansiedade, no que diz respeito ao baixo acesso de comunidades mais carentes, aos serviços especializados (com médicos psiquiatras, psicólogos e enfermeiras especialistas em saúde mental), o que reduz consideravelmente o tratamento adequado. Além disso, o custo elevado do tratamento, mesmo num país com sistema público de saúde universal, acaba deixando a população acometida desassistida, o que se evidencia no fato de que a estimativa média de falta de assiduidade no trabalho por sintomas de ansiedade é de 33,7 dias por ano no Brasil, um período que supera outras doenças frequentes como a Diabetes e as dores crônicas (MANGOLINI et al., 2019).

4 METODOLOGIA

4.1 Material vegetal e obtenção dos extratos

As cascas da planta foram coletadas em agosto de 2021 na região semiárida do Estado da Paraíba, no município de Puxinanã, em sítio particular com geolocalização: 7°10'11.1136.2''S – 35°58'53.6157.5''W. A exsicata foi preparada e identificada no herbário Professor Jayme Coelho de Moraes (PRU) da Universidade Federal da Paraíba, sob o número HACAM 3216.

As partes coletadas da planta foram individualmente secas em estufa de circulação forçada de ar a 40 °C. Posteriormente, foram pulverizadas em moinho de facas com malha de 10 mesh. Os extratos hidroetanólicos foram obtidos por dois métodos extrativos (turbólise e ultrassom), utilizando como solvente água:etanol nas proporções 50:50 e 30:70 v/v. As soluções extrativas foram preparadas para atingir uma concentração final de 20 % (p/v) de material vegetal.

Na extração por ondas ultrassônicas, submeteu-se as soluções preparadas à aparelhagem adequada (Lavadora ultrassônica – UNIQUE modelo Ultrasonic Cleaner), em banho-maria a 40 °C, por um período de 60 minutos. A extração por turbólise foi realizada em um aparelho Ultra-turrax® com taxa de rotação de 6.000 rpm por 15 minutos, no qual a solução extrativa permaneceu em banho gelado para manutenção da temperatura.

Ao final do processo extrativo, os extratos líquidos foram filtrados e em seguida concentrados por evaporação a vácuo, para retirada do solvente, obtendo assim os IFAV.

4.2 Prospecção fitoquímica

Foi realizado um estudo quantitativo dos principais metabólitos secundários (polifenóis, flavonoides e taninos) presentes nos extratos das cascas de *E. velutina*, por espectrofotometria na região do ultra-violeta visível, utilizando o espectrofotômetro Uvmini-1240 Shimadzu. Essa caracterização teve por finalidade identificar os constituintes presentes em maior quantidade na planta selecionada. Para isso foi construída uma curva de calibração, com soluções obtidas com os padrões de referência utilizados na identificação dos metabólitos secundários. O conteúdo total de cada constituinte identificado foi expresso em miligramas equivalentes ao padrão utilizado (DJIOGUE et al., 2014).

4.2.1 Determinação do teor de polifenóis totais

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 3 e 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido gálico, analisadas em aparelho anteriormente descrito, para a leitura da absorbância em 757 nm. As leituras foram realizadas com amostras das soluções do extrato vegetal na presença do reagente de Folin-Ciocalteu em meio alcalino relacionando os valores de absorbância encontrados, com a concentração de polifenóis da solução, através de uma relação matemática obtida pela curva de calibração.

De acordo com a técnica, distribuiu-se em tubos de ensaio 0,5 mL da solução do reagente de Folin-Ciocalteu 50% e posteriormente, 0,5 mL de solução do extrato. Os tubos ficaram em repouso por 2 minutos, à temperatura ambiente (25 °C). Em seguida, adicionou-se 1 mL de uma solução de Na_2CO_3 a 20% (m/v). Os tubos ficaram em repouso novamente por 10 minutos até a reação colorimétrica ser completada. As medidas foram obtidas em triplicata, em comprimento de onda ajustado para 757 nm. A concentração do extrato foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorbância espectral obtida através da curva de calibração. O resultado da absorbância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 0,5 mL da solução de extrato e 1,5 mL de água deionizada, onde foi subtraído os valores de absorbância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores do que zero e estavam dentro dos limites de absorbância de trabalho.

4.2.2 Determinação de flavonóides totais

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 2 e 28 $\mu\text{g mL}^{-1}$, de quercetina, analisadas em aparelho anteriormente descrito, para a leitura da absorbância em 415 nm. As leituras das amostras do extrato vegetal foram realizadas na presença de soluções do cloreto de alumínio relacionando os valores de absorbância encontrados com a concentração de flavonóides da solução através de uma relação matemática obtida pela curva de calibração.

Distribuiu-se em tubos de ensaio 1,5 mL de solução metanólica de AlCl_3 2% (p/v) e posteriormente 1,5 mL de solução metanólica do extrato. Os tubos ficaram em repouso por 10 minutos, à temperatura ambiente (25 °C). As medidas foram obtidas em triplicata, em comprimento de onda ajustado para 415 nm. A concentração do extrato foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorbância espectral, obtida através da curva de calibração. O resultado da absorbância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 1,5 mL da solução do extrato e 1,5 mL de metanol, subtraindo os valores de

absorbância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores que zero e estavam dentro dos limites de absorbância de trabalho.

4.2.3 Determinação do teor de taninos condensados

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 10 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de catequina analisadas em aparelho anteriormente descrito, para a leitura da absorbância em 500 nm. As leituras das amostras do extrato vegetal foram realizadas na presença de uma solução de vanilina, em meio ácido, relacionando os valores de absorbância encontrados com a concentração de taninos condensados da solução através de uma relação matemática obtida pela curva de calibração.

De acordo com o procedimento técnico, distribuiu-se em tubos de ensaio 1,5 mL de solução metanólica de vanilina 4% (p/v) e posteriormente 0,25 mL de solução metanólica do extrato e 0,75 mL de HCl P.A. Os tubos permaneceram em repouso por 20 minutos, imersos em água a cerca de 22 °C. As medidas foram obtidas em triplicata, em comprimento de onda ajustado para 500 nm. A concentração do extrato foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorbância espectral, obtida através da curva de calibração. O resultado da absorbância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 0,25 mL da solução do extrato e 2,25 mL de metanol, subtraindo os valores de absorbância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores que zero e estavam dentro dos limites de absorbância de trabalho.

4.3 Local de pesquisa

O projeto de pesquisa do presente estudo foi analisado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual da Paraíba com o número 024/2021, cuja declaração encontra-se em anexo. Os ensaios foram desenvolvidos no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos e no Biotério Professor Eduardo Barbosa Beserra, Campus I da Universidade Estadual da Paraíba.

4.4 Animais e aspectos éticos

Foram utilizados camundongos albinos *Swiss (Mus musculus)* adultos, para avaliação farmacológica, pesando entre 25 e 35g, com idade entre 6 a 8 semanas, obtidos do Biotério da Universidade Estadual da Paraíba. No centro de criação, os animais foram mantidos em gaiolas plásticas, sob temperatura e umidade ambiente (23 ± 2 °C), respeitando-se o ciclo claro e escuro de 12h, alimentando-se com ração e água *ad libitum*. Um número de 8 animais foi utilizado em cada grupo experimental. Sendo o trabalho constituído por três grupos experimentais e dois grupos controle para cada teste, e que em dois testes foram utilizados os mesmos animais, fez-se necessário uma amostra total de 40 animais.

No estudo de toxicidade aguda foram utilizados um total de 5 fêmeas e 5 machos de acordo com o Guia nº 22 de 17/06/2019 (Estudos não clínicos necessários ao desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos e produtos tradicionais fitoterápicos) pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26 de 13/05/2014. Tratando-se de um grupo controle e um experimental, fez-se necessário 10 machos e 10 fêmeas.

Todos os animais foram eutanasiados com uma injeção de anestésicos, contendo uma associação de ketamina 10% e xilazina 2% por via intraperitoneal, como recomendado nas Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA de 2018, referente a roedores e pequenos mamíferos.

Após serem eutanasiados os animais foram acondicionados em sacos plásticos sob refrigeração à -20 °C. O recolhimento foi realizado por empresa especializada no descarte de material biológico.

4.5 Toxicidade aguda oral

Para avaliação da toxicidade aguda foi utilizada a metodologia encontrada no Guia nº 22 de 17/06/2019 (Estudos não clínicos necessários ao desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos e produtos tradicionais fitoterápicos) pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26 de 13/05/2014. Conforme disposto no Guia Camundongos fêmeas e machos, foram aleatoriamente distribuídos em quatro grupos de 5 animais. Os animais do grupo controle negativo foram tratados com solução salina 0,9% (10 mL kg^{-1}) por meio de sonda intragástrica, e os animais dos grupos teste com a dose de 2000 mg kg^{-1} do extrato. Foram realizadas observações sistemáticas nos tempos de 30 min, 1h, 2h e 4h após a administração e depois a cada 24 horas diariamente durante 14 dias quanto a morte ou alterações comportamentais, além

do consumo de água e ração. Ao final, os animais foram pesados anestesiados e eutanasiados, tendo os órgãos (pulmão, fígado, rins, baço e coração) coletados para análise macroscópica.

- Grupo 1 (camundongos machos): solução salina;
- Grupo 2 (camundongos fêmeas): solução salina;
- Grupo 3 (camundongos machos): 2000 mg kg⁻¹ do extrato;
- Grupo 4 (camundongos fêmeas): 2000 mg kg⁻¹ do extrato.

4.6 Atividade ansiolítica

Foi proposto um protocolo à fim de avaliar os efeitos comportamentais e ansiolíticos da administração do extrato seco das cascas de *E. velutina*. A triagem farmacológica foi realizada por meio dos testes de labirinto em cruz elevado, teste de movimentação espontânea e barra giratória (*rota rod*), ambos de forma aguda. Foram utilizados animais heterogênicos, de linhagem *Mus musculus* – *Swiss*. Para cada ensaio foram selecionados 5 grupos com 8 animais cada (RAUPP et al., 2008), que foram separados de acordo com a randomização dos animais pela idade para receber um dos tratamentos.

Os animais sem acesso a água e comida por 1 hora (RAUPP et al., 2008) receberam os tratamentos conforme o grupo:

- Grupo 1 (controle negativo): Solução salina 0,9 %
- Grupo 2 (controle positivo): Diazepam 1mg kg⁻¹
- Grupo 3 (tratamento): Extrato de *E. velutina* 62,5 mg kg⁻¹
- Grupo 4 (tratamento): Extrato de *E. velutina* 125 mg kg⁻¹
- Grupo 5 (tratamento): Extrato de *E. velutina* 250 mg kg⁻¹

A administração dos tratamentos e da solução salina foi realizada por sonda intragástrica (gavagem). O Diazepam por sua vez, foi inoculado por via intramuscular (intraperitoneal).

4.6.1 Teste de labirinto em cruz elevado (TLCE)

Após uma hora desde a administração do tratamento, os animais foram submetidos ao TLCE individualmente (Figura 2). O tempo de permanência de cada animal foi de 5 minutos, de modo que foi avaliado a porcentagem de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, além de comportamentos como *rearing* (levantar), *stretched attend postures* (espreitas), *grooming* (autolimpeza) e *head dippings* (mergulhos de cabeça) (PINHEIRO et al., 2018). O grupo controle positivo foi avaliado após trinta minutos da administração da droga de referência.

Figura 2 – Teste de labirinto em cruz elevado (TLCE)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Foi considerada “entrada” em um dos braços do labirinto quando as quatro patas do animal atravessavam o limite do braço em questão. A porcentagem de entradas e do tempo de permanência nos braços abertos no Labirinto foram calculados com as seguintes fórmulas:

$$\% \text{ Entradas} = \frac{\text{Entradas nos braços abertos}}{\text{Entrada nos braços abertos} + \text{Entradas nos braços fechados}} \times 100$$

$$\% \text{ Tempo} = \frac{\text{Tempo nos braços abertos}}{\text{Tempo nos braços abertos} + \text{Tempo nos braços fechados}} \times 100$$

Foram realizadas as medidas etológicas selecionadas para a análise deste estudo (RODGERS et al., 1995):

Figura 3 – Medidas etológicas: *Rearing* (levantarse)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Figura 4 – Medidas etológicas: *grooming* (autolimpeza)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Figura 5 – Medidas etológicas *Head dippings* (mergulhos de cabeça)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

4.6.2 Teste de movimentação espontânea (TME)

O teste de movimentação espontânea, fornece medidas simultâneas de locomoção, exploração e ansiedade. O campo aberto constitui uma arena medindo 30 cm de altura x 30 cm de diâmetro. Após passarem pelo TLCE, os camundongos foram colocados no centro da arena durante 5 minutos enquanto foram registrados os seguintes parâmetros: número de cruzamentos nos quadrantes, número de *rearing* (levantar), e número de *grooming* (autolimpeza) (PRUT; BELZUNG, 2003; RIOS et al., 2020).

Figura 6 – Teste de movimentação espontânea (TME)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

4.6.3 Teste da barra giratória (rota rod)

Para avaliar os possíveis efeitos não específicos de relaxamento muscular do extrato, os animais foram submetidos ao teste de *rota rod*. O aparelho (Insight, Ribeirão Preto, Brasil) mostrado na figura 7 consiste em uma barra giratória com diâmetro de três cm. Uma hora após a administração dos tratamentos citados nos testes anteriores, cada animal foi colocado individualmente sobre a barra giratória a uma velocidade de 12 rpm e foram monitorados em relação a capacidade de manter-se em equilíbrio sobre a barra. O grupo controle positivo foi avaliado após trinta minutos da administração da droga de referência.

Figura 7 – Barra giratória (rota rod)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

4.7 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão da média (D.P.M) e os grupos experimentais foram comparados aos seus respectivos controles. Para comparação de médias entre os grupos foi usado o teste “t” de *Student* e para comparação múltipla dos parâmetros foi utilizado a Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de *Tukey*. Em todas as análises foram considerados estatisticamente significantes valores de $p < 0,05$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Droga vegetal

Após a secagem e moagem das cascas obteve-se um pó de cor castanho-claro (Figura 8), com tamanhos e formatos de partículas variados, sabor amargo e odor próprio. O rendimento total após moagem foi de 758 g de droga vegetal.

Figura 8 – Droga vegetal da casca de *Erythrina velutina* Willd



Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

5.2 Prospecção fitoquímica

As plantas produzem diversos metabólitos, os metabólitos primários possuem função estrutural e de armazenamento de energia, por conseguinte os secundários são conhecidos por promover muitos efeitos biológicas quando expostos à um organismo. Triagens fitoquímicas realizadas em extratos de diversas espécies demonstram a presença de diversos compostos fitoquímicos, dentre eles destacam-se: taninos, esteróis, terpenos, flavonóides, alcaloides, saponinas e quinonas (ELNIMA, OMER, 2003; GEYID et al., 2005; MAIKAI et al., 2010; KABERA et al., 2014).

Os dados relativos às curvas analíticas obtidas com ácido gálico, quercetina e catequina estão dispostos a seguir na Tabela 1.

Tabela 1 – Dados obtidos com as curvas de calibração na prospecção fitoquímica.

Padrão	Equação	Coefficiente de correlação linear (R²)
Ácido gálico	$y=0,0655x-0,0844$	0,9933
Quercetina	$y=0,0795x-0,0713$	0,9972
Catequina	$y=0,0034x+0,0003$	0,9909

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Os dados foram submetidos à análise de variância (falta de ajuste e significância da regressão) utilizando o teste F de Snedecor para avaliação do ajuste do modelo. Os resultados revelaram que neste modelo não houve falta de ajuste e apresentou significância da regressão, validando o modelo dado pela equação da reta.

Assim como descrito na tabela 2, o estudo revelou que o método extrativo mais eficiente para obtenção de maiores concentrações dos metabólitos secundários nas cascas de *E. velutina* foi a turbólise, utilizando o solvente água:etanol na proporção 30:70 v/v.

Com a turbólise a 70% constatou-se que a cada 100 gramas de extrato foi obtido 792,31 mg de equivalentes de ácido gálico (polifenóis totais), os flavonoides tiveram uma concentração de 212,15 mg de equivalente de quercetina e os taninos apresentaram 648,03 mg de equivalentes de catequina.

Tabela 2 – Quantificação de polifenóis totais, flavonoides totais e taninos condensados determinados no extrato hidroalcolico de *E. velutina*.

Método	Etanol (%)	Polifenóis totais (mgEAG 100g⁻¹)	Flavonóides totais (mgEQ 100g⁻¹)	Taninos condensados (mgEC 100g⁻¹)
Ultrassom	50	643,56 ± 2,16	181,50 ± 0,89	590,20 ± 1,22
	70	696,39 ± 1,94	192,50 ± 0,80	701,47 ± 1,53
Turbólise	50	364,63 ± 2,10	124,00 ± 0,87	660,78 ± 1,76
	70	792,31 ± 1,05	212,15 ± 0,43	648,03 ± 3,74

Legenda: EAG - equivalentes de ácido gálico; EQ - equivalentes de quercetina; EC equivalentes de catequina.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Carvalho e colaboradores, detectaram de forma qualitativa a presença de constituintes fitoquímicos no extrato aquoso das folhas de *E. velutina*, como alcaloides, catequinas, esteroides, flavonóis, flavonóides, fenóis, saponinas, taninos, triterpenóides e xantonas. (CARVALHO et al, 2009)

Compostos fenólicos como os flavonoides e ácidos fenólicos, destacam-se no meio científico das plantas medicinais, devido a sua ampla gama de efeitos farmacológicos, agindo principalmente como antioxidantes e anti-inflamatórios (LEAL et al. 2005). Os polifenóis são altamente difundidos como compostos dietéticos derivados de plantas extremamente importantes, devido à produção de diversos efeitos considerados benéficos para os humanos, bem como, antimicrobiano, antiviral, antialérgico, anti-inflamatório e antioxidante. (SODAGARI et al, 2016)

Dessa forma, após eleger o método extrativo que rendeu maior quantidade de constituintes fitoquímicos, foi dada continuidade a triagem farmacológica.

5.3 Prospecção da atividade biológica do extrato seco de *E. velutina*

5.3.1 Toxicidade aguda

A avaliação de toxicidade aguda é uma metodologia amplamente empregada para verificar e classificar substâncias quanto à sua capacidade de provocar danos agudos aos organismos vivos, em altas doses, especialmente injúrias anatomopatológicas e letalidade, além disso podem contribuir estabelecendo parâmetros para a saúde humana (VALADARES, 2006).

Por meio do teste de toxicidade água, é possível verificar alterações de natureza macroscópicas nos órgãos dos animais eutanasiados, tais como mudanças morfológicas e de coloração. Sendo assim, é possível coletar dados iniciais acerca do modo de ação tóxica e possíveis alvos da substância teste. Nesse ensaio os órgãos avaliados foram o coração, fígado, rins, baço e pulmões. Nenhum deles apresentou alterações macroscópicas morfológicas ou de coloração (Tabela 3).

Após avaliar o consumo de ração e a ingestão de água, foi observado que o extrato promoveu uma pequena diminuição nesses dois parâmetros, em comparação ao grupo controle, no entanto, esses dados por si só não indicam toxicidade. Na avaliação ponderal não foi observado aumento no peso dos animais ao término do ensaio agudo, o que corrobora para uma baixa toxicidade. Nenhum animal veio a óbito e nenhum sinal de toxicidade foi detectado nas

observações comportamentais ou nas necropsias, estes resultados são indício da baixa toxicidade do extrato de *E. velutina* nas condições testadas.

O valor da dose letal média é estabelecido com a finalidade de evitar o uso inadequado de superdoses que possam levar a morte ou debilidade ao animal. Determinou-se que na concentração testada (2000 mg Kg⁻¹), o extrato não foi capaz de provocar mortalidade nos animais, sendo a dose letal média maior que 2000 mg Kg⁻¹, podendo ser enquadrada na Classe 5 de toxicidade, segundo a GHS (Globally Harmonised System), sendo considerada de baixa toxicidade. (CUNHA et al., 2013). Estes dados colaboraram para estabelecer doses para ensaios *in vivo*.

Tabela 3 – Resultados de toxicidade da *E. velutina*

	FÊMEAS		MACHOS	
	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento
Coração (g)	0,16 ± 0,01	0,14 ± 0,01 ^{ns}	0,18 ± 0,01	0,18 ± 0,01 ^{ns}
Fígado (g)	2,46 ± 0,18	1,85 ± 0,1*	2,81 ± 0,35	2,71 ± 0,21 ^{ns}
Rins (g)	0,68 ± 0,03	0,59 ± 0,06 ^{ns}	0,86 ± 0,09	0,88 ± 0,09 ^{ns}
Baço (g)	0,18 ± 0,05	0,13 ± 0,03 ^{ns}	0,15 ± 0,09	0,15 ± 0,02 ^{ns}
Pulmões (g)	0,24 ± 0,02	0,22 ± 0,05 ^{ns}	0,25 ± 0,04	0,25 ± 0,04 ^{ns}
Consumo de água (mL)	26,07 ± 4,80	22,96 ± 6,45***	22,54 ± 3,43	22,21 ± 4,67 ^{ns}
Consumo de ração (g)	17,43 ± 1,65	13,04 ± 1,72***	14,61 ± 1,71	15,29 ± 1,38 ^{ns}
Ganho de peso (g)	0,80 ± 0,8	0,60 ± 1,14 ^{ns}	3,40 ± 0,89	3,20 ± 0,45 ^{ns}

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Um estudo de toxicidade realizado com o extrato aquoso das folhas de *E. velutina* indica que, quando administrado agudamente, é atóxico por via oral em ratos. (CRAVEIRO et al, 2008). Além disso estudos de toxicidade da *E. velutina* em eritrócitos, demonstraram não haver efeitos hemolíticos nem tóxicos nas populações de células sanguíneas, mesmo em altas doses (MACHADO et al., 2013; LIMA et al 2017). Esses trabalhos corroboram com os resultados apresentados do ensaio de toxicidade aguda.

5.3.2 Atividade ansiolítica

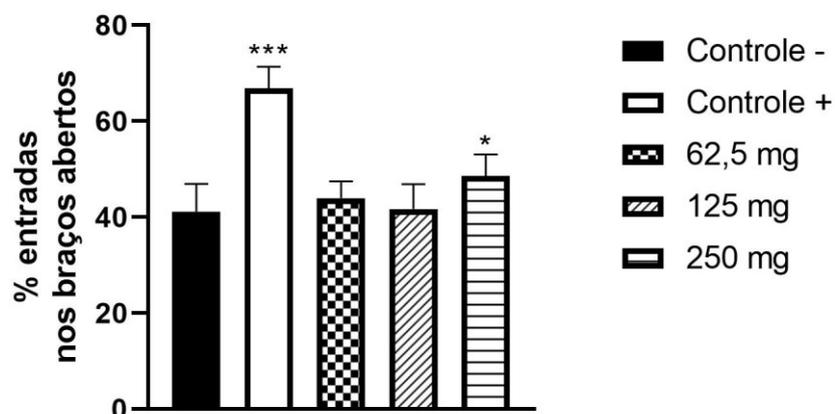
5.3.2.1 Teste de labirinto em cruz elevada

Há anos o labirinto em cruz elevado é um dos modelos animais de ansiedade mais empregado. O comportamento demonstrado pelo animal (ratos ou camundongos) durante o experimento é atribuído a sua aversão natural à espaços abertos, representada pela esquiva dos braços abertos. Substâncias ansiolíticas aumentam a exploração dessas áreas sem alterar a atividade motora do animal. (LISTER, 1987; CAROBREZ e BERTOGLIO, 2005).

Portando, é possível observar que no TLCE, a administração do *EEV* nas concentrações de 62,5 e 125 mg.kg⁻¹ (figura 9) não apresentaram aumento significativo na porcentagem de entradas dos animais nos braços abertos do labirinto. Já a administração do extrato na dose de 250 mg.kg⁻¹ mostrou um aumento de pouco mais de 8% na porcentagem de entradas nos braços abertos. Um estudo realizado por Lollato e colaboradores também não evidenciou diferença na porcentagem de entradas nos braços abertos pela administração oral do extrato hidroalcolóico de *E. velutina* na concentração de 200 mg kg⁻¹ quando comparado ao grupo controle negativo (LOLLATO et. al, 2010)

Em contrapartida, ao analisar os animais que receberam o extrato nas doses de 62,5 e 250 mg kg⁻¹ é possível visualizar um aumento notável na porcentagem do tempo de permanência dos animais nos braços abertos do labirinto (figura 10).

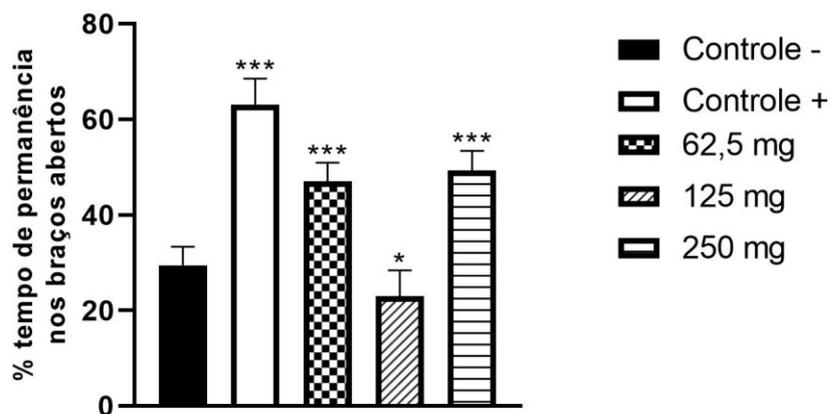
Figura 9 - Efeito da administração oral do *EEV* em camundongos *Swiss* na porcentagem do número de entradas nos braços abertos.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), *p<0,05, ***p<0,001.

Vasconcelos et al., (2004) avaliaram os efeitos comportamentais centrais dos extratos hidroalcoólicos da casca do caule de *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu* no teste do labirinto em cruz elevado, de modo que foram administradas doses únicas por via oral (200, 400 e 800 mg kg⁻¹) em camundongos fêmeas. O grupo observou diminuição no número de entradas dos camundongos tanto nos braços abertos quanto nos braços fechados, após a administração da maior dose (800 mg kg⁻¹) de ambos os extratos avaliados. Este efeito pode estar relacionado à diminuição da atividade locomotora promovida por ambos os extratos.

Figura 10 - Efeito da administração oral do *EEV* em camundongos *Swiss* na porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao controle negativo (solução salina 0,9%), * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$.

Um estudo anterior de Raupp et al. (2008) não demonstrou efeito ansiolítico após administração aguda do extrato hidroalcoólico da casca de *E. velutina*, toda via, o grupo detectou efeito ansiolítico entre o 23° e 26° dias de administração crônica na dose de 100 mg kg⁻¹.

Usando o modelo TLCE neste trabalho, demonstramos um possível efeito ansiolítico agudo do extrato das cascas de *E. velutina* na dose de 250 mg kg⁻¹, atestado pelo aumento significativo na porcentagem de entradas dos animais nos braços abertos do labirinto, assim como o aumento acentuado da porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos. Juntos, esses achados estão de acordo com o efeito tranquilizante conhecido na fitoterapia tradicional brasileira para a espécie *E. velutina* (RABELO et al., 2001; MACHIORO et al. 2005).

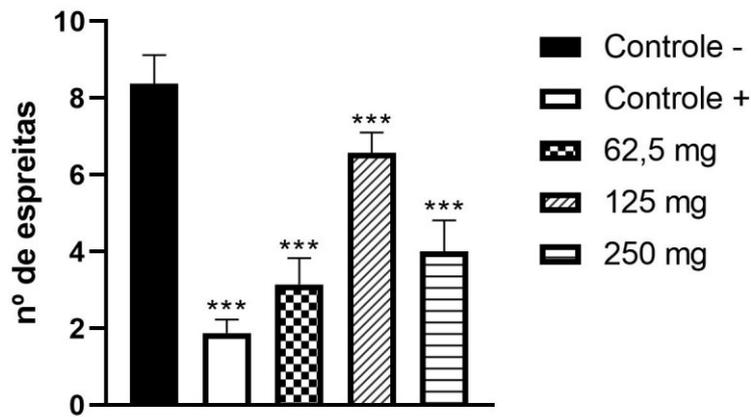
No teste de labirinto em cruz elevado para camundongos, o número de mergulhos de cabeça e espreitas parecem preencher os requisitos de uma avaliação de risco (*risk assessment*),

um comportamento que pode ser relacionado à hipervigilância, característico de indivíduos ansiosos (BLANCHARD et al., 2001). A avaliação de risco representa uma antecipação de um perigo potencial, sendo um comportamento defensivo de grande valor adaptativo. Ainda assim, indivíduos ansiosos parecem mais frequentemente tentar antecipar tal ameaça no intuito de lidar melhor com isto, o que acaba por trazer prejuízos para os mesmos. Desta forma, os animais mais ansiosos se aproximam vagarosamente da saída da plataforma central, exibindo alta frequência de espreitas e de mergulho de cabeça (RODGERS, 1992).

Além disso, foram analisados alguns fatores etológicos, que são comportamentos que representam a avaliação de risco em que o camundongo antecipa um perigo potencial. São eles:

- *Stretched attend postures* (espreitas) - postura em que o animal se estende cautelosamente adiante, sem, no entanto, retirar do lugar suas patas traseiras, voltando em seguida, à mesma posição;
- *Head dippings* (mergulhos de cabeça) - comportamento exploratório, no qual o animal examina a lateral do labirinto (braço aberto) em direção ao chão, sugerindo movimento vertical (SETEM, 1999).
- *Grooming* (autolimpeza) - limpeza de qualquer parte da superfície do corpo com a língua, dentes e / ou patas dianteiras.
- *Rearing* (levantar) - comportamento exploratório no qual os animais apoiam-se nos membros posteriores, com o tronco perpendicular ao piso, adquirindo posição vertical, mantendo as patas anteriores movimentando-se no ar ou encostadas contra a parede do braço (ESPEJO, 1997);

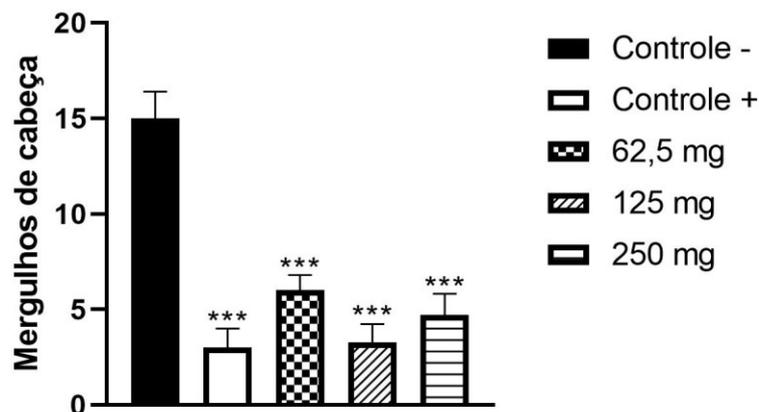
Figura 11 - Efeito da administração oral do *EEV* em camundongos *Swiss* no número de espreitas.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), *** $p < 0,001$.

Na figura 11 é possível evidenciar que os números de espreitas foram realizados com maior frequência no controle negativo (ausência de tratamento), ressaltando a hiper vigilância apresentada por indivíduos ansiosos. O grupo tratado com Diazepam obteve significativa redução deste comportamento, sendo um resultado esperado e promovido por sua ação ansiolítica. O mergulho de cabeça (figura 12) foi executado com maior regularidade pelo controle negativo, tendo os outros grupos, inclusive os tratados com *EEV* e a droga padrão, realizado esse comportamento com menor frequência

Figura 12 - Efeito da administração oral do *EEV* em camundongos *Swiss* no número de mergulhos de cabeça.



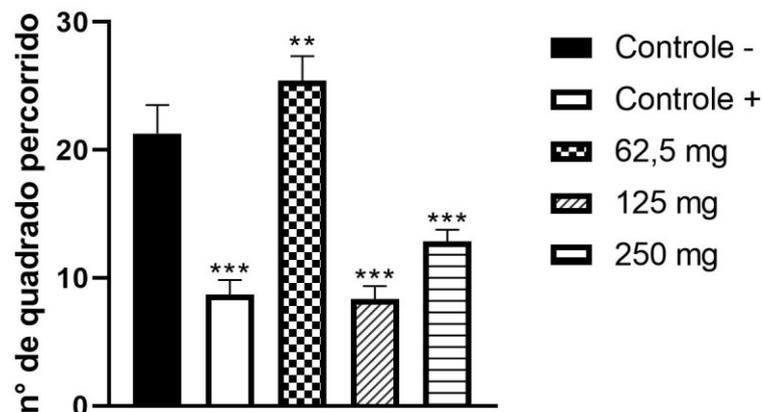
Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), *** $p < 0,001$.

5.3.2.2 Teste de movimentação espontânea

Nesse parâmetro, a administração do extrato das cascas de *E. velutina* na dose de 62,5 mg kg⁻¹ não demonstrou atividade ansiolítica, uma vez que foi observado um aumento na ambulação deste grupo, assim como do grupo tratado com solução salina (Figura 13). No entanto, houve diminuição na atividade de locomoção nos grupos tratados com o *EEV* nas concentrações de 125 e 250 mg kg⁻¹, pois o número de quadrados cruzados no perímetro diminuiu entre estes dois grupos tratados, de forma semelhante ao controle positivo. A frequência de *rearing* também aumentou significativamente após a administração do extrato de *E. velutina* em comparação com o grupo tratado com o Diazepam, entretanto, ainda é possível observar diminuição significativa desse parâmetro quando comparado ao controle negativo (Figura 14).

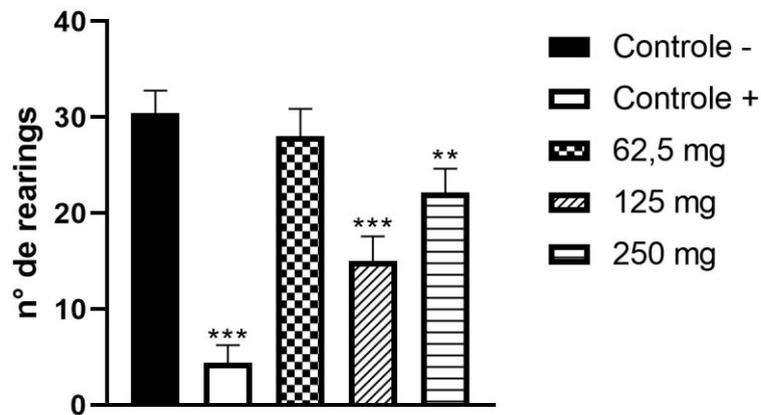
Foi possível observar um número *grooming* semelhante entre os grupos tratados e o controle positivo, tendo o controle negativo apresentado um comportamento de autolimpeza superior a todos os outros grupos (Figura 15).

Figura 13 – Efeito da administração oral do *EEV* em camundongos *Swiss* no número de quadrados percorridos



Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), **P<0,01, ***p<0,001.

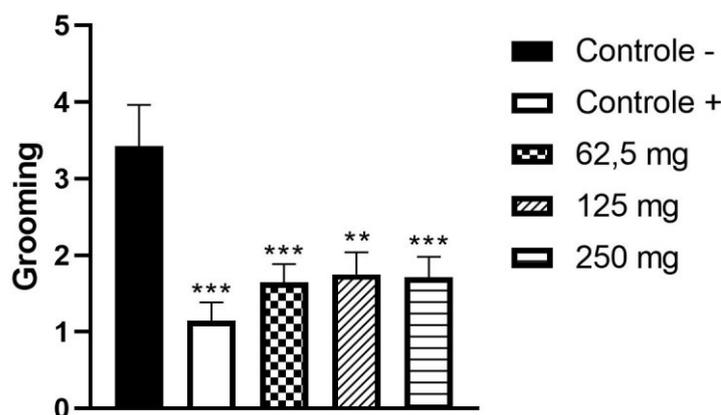
Figura 14 – Efeito da administração oral do *EEV* em camundongos *Swiss* no número de rearings no TME



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), ** $P < 0,01$, *** $p < 0,001$.

No teste de movimentação espontânea também é possível avaliar a ação excitatória ou depressora de uma droga sobre o sistema nervoso central, tendo em vista que substâncias excitatórias aumentam a ambulação do animal durante o teste enquanto que as depressoras diminuem (PIMENTA, 2014).

Figura 15 – Efeito da administração oral do *EEV* em camundongos *Swiss* no número de groomings no TME



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), ** $P < 0,01$, *** $p < 0,001$.

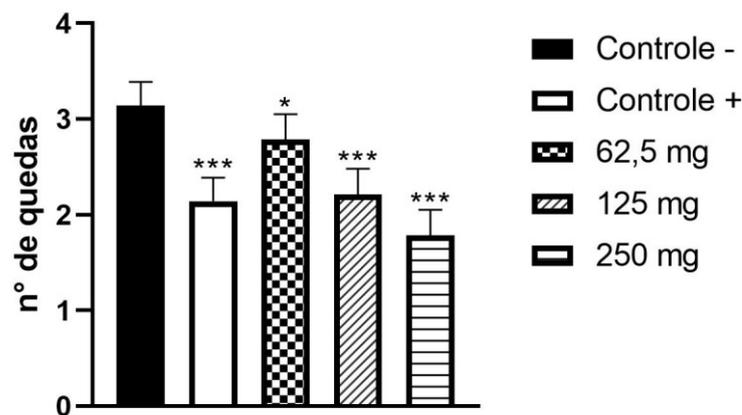
Em outro estudo, Dantas et., al (2004) demonstrou que o extrato hidroalcoólico das folhas de *E. velutina* não alterou o número de cruzamentos, levantamento e autolimpeza no

campo aberto nas doses de 10 e 50 mg kg⁻¹. No entanto, na dose de 200 mg kg⁻¹ o mesmo proporcionou uma redução considerável no número de cruzamentos e de autolimpeza.

5.3.2.3 Teste de rota rod

Tendo como objetivo a exclusão da possibilidade de que um eventual efeito nos modelos descritos anteriormente seja devido a alteração na atividade locomotora dos camundongos, os animais foram submetidos a outro ensaio, denominado *Rota rod*. Foi possível verificar que não houveram alterações motoras e/ou sedativas avaliadas no teste rota rod (Figura 16), uma vez que tanto o grupo tratado com Diazepam como os grupos tratados com o extrato de *E. velutina* apresentaram diminuição no números de quedas. Tendo em vista esses resultados, pode-se afirmar que em todas as concentrações testadas do extrato, não houveram atividades depressoras no sistema nervoso central.

Figura 16 – Efeito da administração oral do *EEV* em camundongos *Swiss* no teste de rota rod



Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$.

Vasconcelos et al., (2004) verificaram os efeitos comportamentais dos extratos hidroalcoólicos da casca do caule de *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu* sobre o sistema nervoso central, no teste de rota rod. O estudo não evidenciou alteração nesse experimento, após administração oral e intraperitoneal nas doses de 200, 400 e 800 mg kg⁻¹ tanto para o extrato de *E. velutina* quanto para o extrato de *E. mulungu*, demonstrando que os tratamentos não afetaram a coordenação motora dos animais na barra giratória. Esse trabalho corrobora com o resultado apresentado no presente estudo.

6 CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que o extrato de *E. velutina* apresentou quantidade significativa de metabólitos secundários, principalmente de polifenóis totais. Com a extração por turbólise utilizando água:etanol na proporção 30/70 v/v, constatou-se que a cada 100 gramas de extrato foi obtido 792,31 mg de equivalentes de ácido gálico (polifenóis totais), os flavonoides tiveram uma concentração de 212,15 mg de equivalente de quercetina e os taninos apresentaram 648,03 mg de equivalentes de catequina.

Os dados obtidos no ensaio de toxicidade aguda mostraram que o extrato não foi capaz de provocar mortalidade nos animais, sendo a dose letal média maior que 2000 mg kg⁻¹, o que enquadra a substância na Classe 5 de toxicidade, segundo a GHS (*Globally Harmonised System*), o que a classifica como substância de baixa toxicidade. O tratamento com o extrato de *E. velutina* mostrou ainda potencial efeito ansiolítico, especialmente quando administrado na dose de 250 mg kg⁻¹.

Além disso no teste de *rota rod* não foram observados efeitos miorelaxantes pela administração do extrato, fato bastante importante, uma vez que esse é um dos principais efeitos adversos proporcionado pelos benzodiazepínicos.

Sabendo que a terapia atual com ansiolíticos apresenta muitos problemas, tais como risco de dependência, síndromes de abstinência ou retardo para início do efeito, os resultados obtidos no presente trabalho fornecem importantes informações para futuros estudos clínicos voltados a avaliar o potencial efeito ansiolítico de preparações fitoterápicas de *Erythrina velutina* sobre o distúrbio de ansiedade.

REFERÊNCIAS

- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: A review. **Animal Behaviour**, v. 21, n. 2, p. 205–235, 1973.
- BERTOGLIO, L.; CAROBREZ, A.P. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews** 29, 1193-1205, 2005.
- BLANCHARD, C.; GRIEBEL, G.; BLANCHARD R. J. Mouse defensive behaviours: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, New York, v.25, n 3, p. 205–218, 2001.
- BORTOLUZZI, M.; SCHMITT, V.; MAZUR, C. Efeito fitoterápico de plantas medicinais sobre a ansiedade: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 2, p. 47, 2020.
- BRAGA, J. E. F.; et al. Ansiedade Patológica: Bases Neurais e Avanços na Abordagem Psicofarmacológica, João Pessoa – Paraíba – Brasil. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde** v. 14, n. 2, p. 94-95, 2010.
- BRANDÃO, D. O. Desenvolvimento de uma formulação de uso intracanal com atividade antimicrobiana obtida a partir de uma planta do semiárido brasileiro. 2014. 130f. **Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF)** - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Política Nacional De Práticas Integrativas E Complementares No Sus. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder executivo, Brasília, DF, 2006.
- BULASMED. (2018). BulasMed. **Referências completas de medicamento**. [Online]. Available: <http://www.bulas.med.br/>. Acesso em 20 março. 2022.
- CARVALHO, A. C. C. S., ALMEIDA, D. S., MELO, M. G. D., CAVALCANTI, S. C. H., MARÇAL, R. M. . Evidence of the mechanism of action of *Erythrina velutina* Willd (Fabaceae) leaves aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, 122(2), 374–378. doi:10.1016/j.jep.2008.12.019, 2009.
- CRAVEIRO, A. C. S.; CARVALHO, D. M. M.; NUNES, R. S.; FAKHOURI, R.; RODRIGUES, S. A.; TEIXEIRA-SILVA, I. F. Acute toxicity of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves in experimental animals. **Braz J Pharmacog**, v. 18 739–743, 2008.
- DJIOGUE, S., HALABALAKI, M., NJAMEN, D., KRETZSCHMAR, G., LAMBRINIDIS, G., HOEPPING, J., VOLLMER, G. (2014). Erythroidine Alkaloids: A Novel Class of Phytoestrogens. **Planta Medica**, 80 (11), 861–869.
- GEYID, A.; ABEBE, D.; DEBELLA, A.; MAKONNEN, Z.; ABERRA, F.; TEKA, F.; KEBEDE, T.; URGU, K.; YERSAW, K.; BIZA, T.; MARIAM, B. H.; GUTA, M. Screening of medicinal plants of Ethiopia for their anti-microbial properties and chemical profiles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 421-427, 2005.

HARAGUCHI, Linete Maria Menzenga; SAÑUDO, Adriana; RODRIGUES, Eliana; CERVIGNI, Herbert; CARLINI, Elisaldo Luiz de Araujo. Impact of the Training of Professionals from São Paulo Public Health System in Phytotherapy Practice. **Revista Brasileira de Educação Médica**, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 1-11, 2020.

LIMA-SARAIVA, S. R. G.; OLIVEIRA, F. G. S.; OLIVEIRA JUNIOR, R. G.; ARAÚJO, C. S.; OLIVEIRA, A. P.; PACHECO, A. G. M.; ROLIM, L. A.; AMORIM, E. L. C.; CÉSAR, F. C. S.; ALMEIDA, J. R. G. S. Chemical analysis and evaluation of antioxidant, antimicrobial, and photoprotective activities of *Schinopsis brasiliensis* engl. (Anacardiaceae). **The Scientific World Journal**, Hindawi, v. 2017, ID 1713921, p. 1–10, Oct. 2017.

LEAL, L. K. A. M.; NOBRE JUNIOR, H. V.; CUNHA, G. M.; MORAES, M. O.; PESSOA, C.; OLIVEIRA, R. A. Amburoside a glucoside from *Amburana cearensis*, protects mesencephalic cells against 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. **Neuroscience Letters**, Limerick, n. 2, v. 388, p.86–90, 2005.

LISTER, R. G.: The use of a plus maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v 92, p. 180-185, 1987.

LOLLATO, G.; SCARMINIO, I. S.; MOREIRA, E. G. Behavioral effects of aqueous and dichloromethane extracts of *Erythrina speciosa* Andrews, Fabaceae, leaves in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 939-944, 2010.

LUIZE, P. S. et al. Effects of medicinal plant extracts on growth of *Leishmania amazonensis* and (*L.*), *Trypanosoma cruzi*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n. 1, p. 85-94, 2005.

MACHADO, R. J. A.; MONTEIRO, N. K. V.; MIGLIOLO, L.; SILVA, O. N.; PINTO, M. F. S.; OLIVEIRA, A. S.; FRANCO, O.; KIYOTA, S.; BEMQUERER, M. P.; UCHOA, A. F.; MORAIS, A. H. A.; SANTOS, E. A. Characterization and pharmacological properties of a novel multifunctional kunitz inhibitor from *Erythrina velutina* Seeds. **PLoS one**, v.8, e63571, 2013.

MAIKAY, V. A.; MAIKAI, B. V. O; KOBO P. I. Antioxidant properties of *Ximenia americana*. **African Journal of Biotechnology**. v. 9, n.45, p. 7744-7746, 2010.

MARTINEZ, R.; GARCIA, A. M. B.; MORATO, S. Papel da luminosidade do biotério no comportamento do rato no labirinto em cruz elevado. **Estudos de Psicologia**, Natal, v. 10, n 2, 2005.

OMER, M. E. F. A.; ELNIMA, E.I. Antimicrobial activity of *Ximenia americana*. **Fitoterapia**, v. 74, p.122-126, 2003.

PALUMBO, Carla Fernanda Gomes; GARDIN, Nilo E.; NAKAMURA, Mary Uchiyama. *Erythrina mulungu* Mart. ex Benth e *Erythrina velutina* Willd. Aspectos farmacológicos e perspectiva antropológica de plantas brasileiras. **Arte Med. Ampl**, p. 152-161, 2016.

PINHEIRO, E. A.; SOUSA, L. S.; SILVA, A. A.; FARIAS, C. P.; VASCONCELOS, S. M. M.; HONÓRIO-JUNIOR, J. E. R. Effect of rutin on a model of chronic corticosterone-

induced depression in mice. **Journal of Health & Biological Sciences**, Fortaleza, v. 6, n. 2, p. 145-151, 2018.

PIMENTA, A. B. **Atividade ansiolítica e antidepressiva do extrato bruto das partes aéreas da *Kielmeyera rubriflora* em camundongos**. 2014. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2014.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, n. 1–3, p. 3–33, 2003.

RABELO, L.A.; AGRA, M.F.; DA-CUNHA, E.V.L.; SILVA, M.S.; BARBOSA-FILHO, J.M. Homohesperetin and phaseollidin from *Erythrina velutina*. **Biochemical Systematics and Ecology**, New York, v. 29 n. 5, p. 543–544. May 2001.

RODGERS, R. J.; COLE, J. C.; COBAIN, M. R.; DALY, P.; DORAN, P. J.; EELLS, J.R.; WALLIS, P. Anxiogenic-like effects of fluprazine and eltoprazine in the mouse elevated plusmaze: profile comparisons with 8-OH-DPAT, CGS 12066B, TFMPP and mCPP1. **Behavioural Pharmacology**, London, v.3, p. 621–634, 1992.

RAUPP, I. M.; SERENIKI, A.; VIRTUOSO, S.; GHISLANDI, C.; SILVA, E. L. C.; TREBIEN, H. A.; MIGUEL, O. G.; ANDREATINI, R. Anxiolytic-like effect of chronic treatment with *Erythrina velutina* extract in the elevated plus-maze test. **Journal of Ethnopharmacology**, New York, v. 118, n. 2, p. 295–299, Jul. 2008.

RIBEIRO, RC GOMES, SEV DANTAS, BF. Qualidade fisiológica de *Erythrina velutina* Willd. (FABACEAE) em diferentes condições de armazenamento. **Scientia Forestalis**, v. 46, n. 120, pág. 562-570, dez. 2018.

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

SPRUIJT, B. B.; VAN HOOFF, J. A. R. A. M.; GISPEN, W. H. **Ethology and Neurobiology of Grooming Behavior**. **Physiological Reviews**, v. 72, p.825–851, 1992.

SILVA, A.; FONSECA, F.; LIMA, M.; SILVEIRA, E.; VIANA, G.; LEAL, L. Pharmacognostical analysis and protective effect of standardized extract and rizonic acid from *Erythrina velutina* against 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity in Sh- Sy5Y cells. **Pharmacognosy Magazine**. v. 12, p. 307-312, 2016.

SILVA, Lailson Suelisson de Almeida. Potencial terapêutico de *Erythrina velutina* (mulungu) na ansiedade e insônia: uma revisão da literatura. 2020.

VASCONCELOS, S. M. M., LIMA, N. M., SALES, G. T. M., CUNHA, G. M. A., AGUIAR, L. M. V., SILVEIRA, E. R., VIANA, G. S. B. Anticonvulsant activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu*. **Journal of Ethnopharmacology**, 110(2), 271–274, 2007.

- SODAGARI, H R; BAHRAMSOLTANI R; FARAEI, M. H.; ABDOLGHAFFARI, A. H.; REAEI, N.; TAYLOR-ROBINSON, A. W. Tea polyphenols as natural products for potential future management of HIV infection - an overview. **Journal of Natural Remedies**, Bangalore, n.2, v. 16, p. 60–72, 2016
- STEIN, M.B.; SAREEN, J. Anxiety Disorder. **The New England journal of medicine** v. 373, p. 2059-2068, 2015.
- SCHLEIER, R.; QUIRINO, C. S.; RAHMEL, S. *Erythrina mulungu* – descrição botânica e indicações clínicas a partir da antroposofia. **Revista Arte Médica Ampliada**, v. 36, n. 4, p. 162-167, 2016.
- SCHÖNHOFEN, F. D. L., NEIVA-SILVA, L., ALMEIDA, R. B. D., VIEIRA, M. E. C. D., & DEMENECH, L. M. Transtorno de ansiedade generalizada entre estudantes de cursos de pré-vestibular. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, 2020.
- TESKE, M., TRENTINI, A.M.M. **Herbarium: Copêndio de Fitoterapia**, 2nd ed. Herbarium Laboratório Botânico, Curitiba, PR, 317 p, 1995.
- VALADARES, M.C., Acute toxicity evaluation: strategies post "DL50 test era", **Revista Eletrônica de Farmácia**, V. 3, P. 93-98, 2006.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Anxiety Disorder**. 2019.
- VEIGA JUNIOR, VALDIR F.; PINTO, ANGELO C.; MACIEL, MARIA APARECIDA M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.
- ZANELLATI, D., SALAZAR, V. C. R. O uso de canabinoides no tratamento da ansiedade. **Revista Brasileira Militar de Ciências**, 7(18), 2021.

ANEXOS

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**DESENVOLVIMENTO DE UM MEDICAMENTO FITOTERÁPICO DE LIBERAÇÃO PROLONGADA UTILIZANDO EXTRATO DE Erytrina velutina Willd. PARA O TRATAMENTO DE ANSIEDADE**” registrada com o nº 024/2021, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, que envolve o uso de camundongos *Mus musculus swiss*, para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008, com o decreto 6.899 de 05 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADA pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual da Paraíba.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	03/2022 a 09/2022
Espécie/linhagem/raça	Camundongos <i>Mus musculus/ swiss</i>
Nº de animais	68 (sessenta e oito)
Idade/peso	06 a 08 semanas/ 25 a 35g
Sexo	fêmeas (10) e machos (58)
Origem	Centro de Bioterismo da UEPB

Informação ao pesquisador:

Lembramos que a pesquisadora responsável deverá encaminhar à CEUA-UEPB o **Relatório Final** baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de 08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA. O prazo para entrega do **relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, previsto para conclusão em 09/2022.**

Campina Grande, 16 de março de 2022.

R. Dantas Pereira dos Santos
Coordenadora da CEUA/UEPB