



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

DANIELLA ISLA MEDEIROS DANTAS

**CARACTERIZAÇÃO DA DROGA VEGETAL DE *Erythrina velutina* Willd E
PROSPECÇÃO DA ATIVIDADE ANSIOLÍTICA E TOXICIDADE AGUDA DO CHÁ
DA CASCA**

CAMPINA GRANDE

2022

DANIELLA ISLA MEDEIROS DANTAS

**CARACTERIZAÇÃO DA DROGA VEGETAL DE *Erythrina velutina* Willd E
PROSPECÇÃO DA ATIVIDADE ANSIOLÍTICA TOXICIDADE AGUDA DO CHÁ
DA CASCA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Obtenção e avaliação da atividade biológica de produtos naturais, sintéticos e biotecnológicos de interesse farmacêutico.

Orientadora: Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros

CAMPINA GRANDE

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.

D192c Dantas, Daniella Isla Medeiros.
Caracterização da droga vegetal de *Erythrina velutina* Willd e prospecção da atividade ansiolítica e toxicidade aguda do chá das casca [manuscrito] / Daniella Isla Medeiros Dantas. - 2022.
83 p.
Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.
"Orientação : Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos , Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."
"Coorientação: Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros , Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."
1. *Erythrina velutina*. 2. Atividade ansiolítica. 3. Fitoterapia.
4. Ansiedade patológica. I. Título

21. ed. CDD 615.321

DANIELLA ISLA MEDEIROS DANTAS

**CARACTERIZAÇÃO DA DROGA VEGETAL DE *Erythrina velutina* Willd E
PROSPECÇÃO DA ATIVIDADE ANSIOLÍTICA TOXICIDADE AGUDA DO CHÁ
DA CASCA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Área de concentração: Desenvolvimento e controle de qualidade de produtos farmacêuticos.

Aprovada em 10/05/2022.

BANCA EXAMINADORA



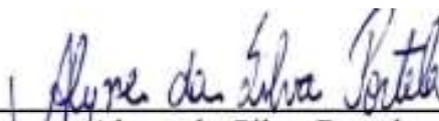
Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos
(Orientadora)



Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros
(Coorientadora)



Lúcio Roberto Cançado Castellano
(Examinador interno)



Alyne da Silva Portela
(Examinador externo)

CAMPINA GRANDE

2022

A minha avó Maria Eunice (*in memoriam*),
com todo meu amor e gratidão, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre foi o autor da minha vida e provedor do meu destino. O meu maior apoio nos momentos difíceis e Nossa Senhora por toda intercessão.

Aos meus pais Jeanne e Osimar, irmãos Danilo e Diogo, por acreditarem nos meus sonhos mesmo não entendendo minhas escolhas, e acima de tudo, por estarem ao meu lado.

Aos meus tios Heliene e Mário, e primos Amanda e Gustavo, e também Dona Luzia por fazerem do seu lar o meu lar. Por todo carinho, apoio e acolhimento, minha eterna gratidão.

A vocês, meus familiares, por desejarem sempre o melhor pra mim, pelo esforço que fizeram para que eu pudesse superar cada obstáculo em meu caminho e chegar até aqui e, principalmente, pelo amor imenso que vocês têm por mim.

Aos meus colegas, amigos e parceiros: Mariana e Pablo, por me acompanharem nessa jornada, por me incentivarem todos os dias e oferecerem apoio, oração e ajuda nos momentos menores.

Aos meus amigos do mestrado: Mariana Calixto, Amanda, Antônio, Demis, Dorian, Karen, Lucas, Mariana Calixto, Priscila, Rafaela, Rômulo, Talita e Thamires. Pelo suporte, companheirismo e por estarmos compartilhando as conquistas um dos outros.

A minhas amigas Clícia, Maysa, Jeane, Marina e Ruth que se colocaram à disposição para compartilhar minhas dores, tristezas e alegrias.

As minhas Orientadora Vanda Lúcia e Ana Cláudia Dantas, pelo exemplo de sabedoria, competência e acima de tudo por ter acreditado em mim. Serei eternamente grata por todas as contribuições na minha formação acadêmica.

A equipe do Labenfarm, em especial a Cris, Yasmin e Thássia por toda ajuda e contribuição nos experimentos.

A equipe do LABDEM, João, Germano, Felipe Hugo, Natália, Gisele, João Victor e em especial a Kilma, e Naara Felipe por toda disposição e parceria nos experimentos.

As minhas colegas de trabalho Adriana, Denise, Guia, Socorro e Ivanilda, por desde o início torcerem por mim e por cuidado e carinho.

Ao diretor do Hospital Regional de Picuí, Alfredo Dantas, por toda compreensão, torcida e carinho.

Aos que fazem o PPGCF, em especial nosso secretário e amigo Thiago, pela paciência e disponibilidade em nos servir e nos acompanhar nessa longa jornada de altos e baixos. Sou grata por toda companhia e disponibilidade.

RESUMO

A ansiedade patológica é uma desordem psíquica que, atualmente, é a causa mais comum de incapacidade em todo o mundo, fato que intensificou a busca por novos tratamentos com menos efeitos adversos e melhor eficácia terapêutica. *Erythrina velutina* é uma espécie nativa da Caatinga, bioma brasileiro único e com características semiáridas. A espécie apresenta atividades sedativas, anticonvulsivantes, neuroprotetoras e ansiolíticas, atuando principalmente em alvos do sistema nervoso central. Dessa forma, a presente dissertação teve como objetivo caracterizar a droga vegetal obtida através das cascas de *E. velutina* (DVEv), avaliar o efeito toxicológico não clínico agudo do chá da DVEv e investigar seu possível efeito ansiolítico *in vivo*. Para a caracterização foram realizadas a densidade aparente, determinação do pH, determinação do Índice de Espuma (IE), determinação do Índice de Intumescência, técnicas térmicas Termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA) e a análise fitoquímica da DVEv. Para a avaliação do efeito toxicológico foi avaliado a citotoxicidade em eritrócitos e a toxicidade aguda oral em camundongos. A prospecção da atividade ansiolítica do chá da DVEv 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*). A DVEv foi classificada como pó grosso, a densidade aparente variou de acordo com o tamanho de partícula, sendo o de maior densidade a EV05 (0,47 g/mL) e o de menor densidade o EV01 (0,22 g/mL), todas partículas demonstraram pH em torno de 6,00, com IE de $1,1 \pm 0,61$ para a EV03, com II de $4,3 \pm 0,57$ mL e $1,3 \pm 0,57$ mL, indicando pouca presença de mucilagens. Da menor partícula (EV06) foi extraído 1,24% de polifenóis, 0,88% de flavonoides e 0,51% de taninos. A Citotoxicidade em eritrócitos apresentou atividade hemolisante baixa e moderada; A toxicidade aguda em camundongos demonstrou que o chá é atóxico. Na TG foi observou-se diferentes parâmetros cinéticos de degradação, sugestivos para perda de água. Na DTA, foi evidenciado as transições de fases em função da temperatura, característicos da decomposição da droga vegetal. Dessa forma, foi possível realizar a caracterização da DVEv e comprovar que o chá das cascas de *E. velutina* apresenta promissora atividade ansiolítica, corroborando com seu uso popular.

Palavras-chave: *Erythrina velutina*. Atividade ansiolítica. Fitoterapia. Chá.

ABSTRACT

Pathological anxiety is a psychic disorder that is currently the most common cause of disability worldwide, a fact that has intensified the search for new treatments with fewer adverse effects and better therapeutic efficacy. *Erythrina velutina* is a native species of the Caatinga, a unique Brazilian biome with semiarid characteristics. The species has sedative, anticonvulsant, neuroprotective and anxiolytic activities, acting mainly on central nervous system targets. Thus, the present dissertation aimed to characterize the plant drug obtained from *E. velutina* peels (VEVD), to evaluate the non-clinical acute toxicological effect of EVDv tea and to investigate its possible anxiolytic effect in vivo. For the characterization, apparent density, pH determination, Foam Index (IE), Swelling Index, thermal techniques Thermogravimetry (TG) and Differential Thermal Analysis (DTA) and phytochemical analysis of EVD were performed. To evaluate the toxicological effect, cytotoxicity in erythrocytes and acute oral toxicity in mice were evaluated. The prospection of the anxiolytic activity of vEVD tea was carried out through behavioral tests, such as the Elevated Cross Maze Test (ELFT) and ethological measures (peeking, lifting, self-cleaning and head diving), Spontaneous Movement Test (STM) and rotating bar (rota rod). DVEv was classified as coarse powder, the apparent density varied according to the particle size, with the highest density being EV05 (0.47 g/mL) and the lowest density being EV01 (0.22 g/mL). , all particles showed pH around 6.00, with IE of 1.1 ± 0.61 for EV03, with II of $4.3 \pm 0.57\text{mL}$ and $1.3 \pm 0.57\text{mL}$, indicating little presence of mucilages. From the smallest particle (EV06) was extracted 1.24% of polyphenols, 0.88% of flavonoids and 0.51% of tannins. Cytotoxicity in erythrocytes showed low and moderate hemolysing activity; Acute toxicity in mice showed that tea is non-toxic. In TG, different kinetic parameters of degradation were observed, suggestive of water loss. In the DTA, the phase transitions as a function of temperature, characteristic of the decomposition of the plant drug, were evidenced. In this way, it was possible to carry out the characterization of vEVD and prove that tea made from *E. velutina* bark has promising anxiolytic activity, corroborating its popular use.

Keywords: *Erythrina velutina*. Anxiolytic activity. Phytotherapy. Tea.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	E. velutina em destaque folhas e flores.....	22
Figura 2 –	Fruto (A) e sementes de E. velutina Willd (B).....	23
Figura 3 –	Cascas de E. velutina e o processo de secagem em estufa com circulação de ar e moinho de facas.....	31
Figura 4 –	Chá da DVEv nas concentrações 5 %, 10 % e 20 % (m/v)	37
Figura 5 –	Teste em Labirinto cruz elevada (TLCE).....	39
Figura 6 –	Medidas etológicas: Rearing (levantar-se)	40
Figura 7 –	Medidas etológicas: grooming (autolimpeza).....	40
Figura 8 –	Medidas etológicas Head dippings (mergulhos de cabeça)	40
Figura 9 –	Teste da movimentação espontânea	41
Figura 10–	Droga vegetal, pó de DVEv	43
Figura 11–	Droga vegetal obtida a partir da casca de E. velutina separada em 6tam (malhas 710, 355, 180, 150, 75, 38 µm)	44
Figura 12–	Curvas TG para as seis partículas com granulometrias diferentes	50
Figura 13 –	Curvas DTA para as seis partículas com granulometrias diferentes.....	52
Figura 14 –	Efeito da administração oral do chá da DVEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss pelo número de entradas nos braços abertos.....	58
Figura 15 –	Efeito da administração oral do chá da DVEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss na porcentagem de permanência nos braços abertos.....	59
Figura 16 –	Efeito da administração oral do chá da DVEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss no número de espreitas.....	62
Figura 17 –	Efeito da administração oral do chá da DVEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss no número de mergulho de cabeça.....	62
Figura 18 –	Efeito da administração oral do chá da DVEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss no número de autolimpeza	63
Figura 19 –	Efeito da administração oral do chá da DVEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss no número de quadrado percorrido.....	64
Figura 20 –	Efeito da administração oral do chá da DVEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss no número de Rearings.....	64
Figura 21 –	Efeito da administração oral do chá da DVEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss no número de Grooming	65

Figura 22 – Efeito da administração oral do chá da DVEv (5, 10, 20%) em camundongos *Swiss* no número de quedas..... 66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Porcentagem de pó obtida após o processo de tamisação.....	44
Tabela 2 –	Valores obtidos para o teste de densidade de <i>DVEv</i> em diferentes malhas do tamis.....	45
Tabela 3 –	Resultados de altura de espuma (cm) do teste de índice de espuma dos diferentes tamanhos de partículas de <i>DVEv</i>	46
Tabela 4 –	Avaliação do índice de intumescência dos diferentes tamanhos de partículas de <i>DVEv</i>	47
Tabela 5 –	Quantificação de metabólitos secundários da espécie <i>E. velutina</i>	48
Tabela 6 –	Dados das temperaturas de decomposição dos diferentes tamanhos de partícula de <i>E. velutina</i>	51
Tabela 7 –	Dados da análise térmica diferencial (DTA) dos diferentes tamanhos de partículas.....	54
Tabela 8 –	Potencial hemolisante da <i>DVEv</i> preparado com partícula de EV01 em diferentes tipos sanguíneos (A, B e O).....	55
Tabela 9 –	Resultado da toxicidade da <i>E. velutina</i>	57

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	Aspectos gerais da ansiedade	17
3.3	Plantas com potencial ansiolítico	18
3.4	Família Fabaceae e gênero <i>Erythrina</i>	20
3.5	<i>Erythina velutina</i> Willd.	21
4	METODOLOGIA	31
4.1	Material vegetal e obtenção do extrato	31
4.2	Determinação dos tamanhos de partículas	31
4.3	Controle de qualidade da droga vegetal	32
4.4	Análise fitoquímica	33
4.4.1	<i>Determinação do teor de polifenóis totais</i>	33
4.4.2	<i>Determinação do teor de flavonóides totais</i>	34
4.4.3	<i>4.4.3 Determinação do teor de taninos condensados</i>	34
4.5	Análise térmica	35
4.5.1	<i>Termogramimetria (TG)</i>	35
4.5.2	<i>Análise Térmica Diferencial (DTA)</i>	35
4.6	Citotoxicidade em Eritrócitos	36
4.7	Prospecção da atividade biológica do chá de <i>E. velutina</i>	37
4.7.1	<i>Produção do chá das cascas de Erythrina velutina</i>	37
4.7.2	<i>Toxicidade Aguda Oral</i>	37
4.8	Atividade ansiolítica	38
4.8.1	<i>Desenho experimental</i>	38
4.8.2	<i>Testes Comportamentais</i>	38
4.8.2.1	<i>Teste Labirinto Cruz Elevada (TLCE)</i>	38
4.8.2.2	<i>Testes de movimentação espontânea</i>	41
4.8.2.3	<i>Teste de barra giratória (rota-rod)</i>	41
4.8.2.4	<i>Análise estatística</i>	42

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1	Processamento da droga vegetal	43
5.2	Controle de qualidade da droga vegetal	44
5.3	Prospecção fitoquímica	47
5.4	Análise Térmica.....	49
5.5	Citotoxicidade em Eritrócitos.....	55
5.6	Prospecção da atividade biológica do chá <i>E. velutina</i>.....	56
5.6.1	<i>Toxicidade aguda</i>	56
5.6.2	<i>Atividade ansiolítica</i>	58
5.6.2.2	<i>Teste de campo aberto</i>	63
5.6.2.3	<i>Teste de Rota – rod</i>	66
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
	REFERÊNCIAS.....	70
	ANEXO A - Protocolo utilizado na triagem farmacológica comportamental.....	82
	ANEXO B - Certificado de aprovação pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual da Paraíba.....	83

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais exercem um papel fundamental na prevenção e tratamento de doenças, além de servirem como alimento, serem utilizadas em festejos e em atos religiosos, sendo por isso considerados sagrados em muitas culturas. Dessa forma quer sejam inteiras ou partes específicas delas podem ser usadas para fins medicinais e ser usadas como matérias-primas na indústria farmacêutica e alimentícia (CORRÊA; ALVES; ROCHA, 2021).

O Brasil é um país que possui um imenso potencial para o desenvolvimento da terapêutica com plantas medicinais e fitoterápicos, visto que é a maior diversidade vegetal do mundo, aproximadamente 10% da flora mundial. Essa diversidade biológica é muito expressiva tanto em relação às potencialidades genéticas, como em relação ao número de espécies e de ecossistemas (ALVES et al., 2018). A Caatinga é um bioma brasileiro único e pouco estudado com características edafoclimáticas semiáridas (CHACON et al., 2021).

A diversidade química decorrente do metabolismo especializado é uma das principais fontes de moléculas bioativas de plantas e têm sido usadas na medicina popular desde a antiguidade, repercutindo como moléculas alvo de interesse biotecnológico. Acredita-se que as características edafoclimáticas no bioma Caatinga poderiam selecionar e induzir a biossíntese de novos e diversos metabólitos em espécies locais. Além disso, as espécies nativas da Caatinga apresentam escasso conhecimento até o momento em nível de metabólitos (CHACON et al., 2021).

Desse modo, na rica diversidade vegetal brasileira, encontram-se as plantas do gênero *Erythrina*, que são empregadas essencialmente como depressores do sistema nervoso central na medicina popular e são importantes fontes de alcalóides tetracíclicos benzilisoquinolínicos bioativos, que podem apresentar efeitos em diversos alvos biológicos relacionados à patologia (FAHMY et al., 2019; RAMBO et al., 2020).

E. velutina é uma espécie nativa da Caatinga (BESSA et al., 2017), que possui atividades sedativas, anticonvulsivantes, neuroprotetoras e ansiolíticas, atuando principalmente em alvos do sistema nervoso central (SNC) (FAHMY et al., 2019; RAMBO et al., 2020).

No que se refere ao mercado nacional de medicamentos fitoterápicos, observou-se que quase todos os derivados de *Erythrina* (espécies cultivadas) são comercializados com o nome tradicional de “mulungu”, podendo exprimir um risco à saúde pública (FEITOSA et al., 2012; RAMBO et al., 2013). Com isso, o estabelecimento de critérios de controle de qualidade e padronização dos produtos fitoterápicos comercializados é de suma importância (RAMBO et al., 2019).

Dessa forma, o presente estudo objetivou caracterizar a droga vegetal e realizar a prospecção da atividade ansiolítica do chá obtida a partir das cascas de *E. velutina*, comumente utilizada na medicina popular. Além disso, fornece informações, agregação de valor e aprimoramento da comercialização sustentável de *E. velutina* na forma de chás, levando à validação de alegações etnobotânicas não confirmadas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar a caracterização da droga vegetal da casca de *Erythrina velutina* Willd e avaliar a atividade ansiolítica e toxicidade aguda do chá da casca.

2.2 Objetivos específicos

- a) obter a droga vegetal de *Erythrina velutina* (*DVEv*) em diferentes tamanhos de partículas, através de suas cascas;
- b) caracterizar a *DVEv* utilizando técnicas analíticas e ensaios farmacopeicos;
- c) analisar os aspectos fitoquímicos, obtendo uma impressão digital (*fingerprint*) da *DVEv*;
- d) realizar o ensaio de citotoxicidade em eritrócitos do chá da *DVEv*;
- e) avaliar o efeito toxicológico não clínico agudo do chá da *DVEv*;
- f) investigar o possível efeito ansiolítico do chá da *DVEv in vivo*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Plantas Medicinais

A utilização de plantas medicinais é feita desde os tempos antigos e pode até ser considerado a origem da medicina moderna. Os compostos de origem vegetal têm sido e ainda são uma importante fonte de compostos para medicamentos (SALMERÓN-MANZANO et., 2020). Nos primórdios, para tratar doenças ou simplesmente para se sentir melhor, o método utilizado para diferenciar plantas úteis com efeitos benéficos era o método de tentativa e erro (KUNLE et al., 2012).

O uso dessas plantas foi aprimorado no decorrer das gerações, tornando-se conhecida, em muitos contextos, como na prática da medicina tradicional, que é definida oficialmente como "a soma total de conhecimentos, habilidades e práticas baseadas em teorias, crenças e experiências indígenas de diferentes culturas, explicáveis ou não, utilizadas na manutenção da saúde, bem como em a prevenção, diagnóstico, melhora ou tratamento de doenças físicas e mentais " (WHO, 2000).

É verídico que todas as civilizações desenvolveram essa forma de medicamento com fundamento nas plantas em seu próprio habitat (HOUGHTON, 1995; GURIB-FAKIM, 2006). Alguns autores acreditam que esse conhecimento propagado é a origem do medicamento e da farmácia. Centenas de plantas superiores são cultivadas em todo o mundo para obter compostos úteis na medicina e na farmácia (KELBER; RUDOLF; WOLFGANG, 2018).

A origem da ciência moderna, especialmente no Renascimento, em particular a análise química, e a instrumentação associada, como o microscópio, foi o que tornou possível isolar os princípios ativos das plantas medicinais. Desde então, esses princípios ativos foram obtidos sinteticamente em laboratório para produzir os medicamentos posteriormente (ATANASOV et al., 2015). A Revolução Industrial e o desenvolvimento da química orgânica resultaram na preferência por produtos sintéticos para tratamento farmacológico. As razões para isso eram que compostos puros eram facilmente obtidos, modificações estruturais para produzir medicamentos potencialmente mais ativos e seguros poderiam ser facilmente realizadas e o poder econômico das empresas farmacêuticas estava aumentando (RATES, 2001) A medicina precisa da indústria que produz medicamentos farmacêuticos, que são amplamente baseados nos princípios ativos das plantas e, portanto, são usados como matéria-prima em muitos casos (ARCEUSZ; RADECKA; WESOLOWSKI, 2010).

A OMS também reconhece que a maioria das populações nos países em desenvolvimento ainda depende de medicamentos fitoterápicos para atender às suas necessidades de saúde (KADIR et al., 2013) e tem um profundo interesse na documentação do conhecimento de plantas medicinais de diferentes áreas do globo (MAHWASANE, et al. 2013). Autores mostram que de 1960 a 2019, foram publicados mais de 110.000 estudos relacionados a plantas medicinais, sendo a China e a Índia os países que mais se destacaram e em terceiro lugar fica os Estados Unidos seguido do Brasil.

Ao longo dos anos, grandes avanços em relação ao uso de fitoterápicos e plantas medicinais no Brasil foram sendo conquistados. Dentre eles, destaca-se as políticas públicas relacionadas às plantas medicinais e fitoterápicas, após a publicação da Portaria 971 (em 03 de maio de 2006) e do Decreto 5.813 (em 22 de junho de 2006). Estes abordam a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicas (BRASIL, 2006).

A criação da PNPIC no SUS estabeleceu diretrizes consideráveis, como: a elaboração da Relação Nacional de Plantas Medicinais e de Fitoterápicos, que determina critérios para inclusão e exclusão embasado nos conceitos de eficácia e segurança; a reconhecimento das necessidades da população, das enfermidades passíveis de serem tratadas com plantas medicinais e fitoterápicos, e torna-las acessíveis nas Unidades de Saúde, de maneira complementar, usando um ou mais dos seguintes produtos: a planta medicinal, planta medicinal seca (droga vegetal), fitoterápico manipulado ou o fitoterápico industrializado (BRASIL, 2006a).

A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos favoreceu a implementação de ações capazes beneficiar melhorias na qualidade de vida da população brasileira. Nas bases dessa nova política, está prevista a melhoria do acesso da população aos medicamentos, ampliando as alternativas terapêuticas e a promoção da atenção à saúde dos usuários do Sistema Único de Saúde – SUS (Portaria nº 971 do Ministério da Saúde, de 03/5/2006) (BRASIL, 2006). Também favoreceu a inclusão social e regional, promoção da segurança alimentar e nutricional, progresso industrial e tecnológico, além do uso sustentável da biodiversidade brasileira e enaltecimento do conhecimento tradicional adjunto das comunidades tradicionais e indígenas. Além disso, a finalidade desta Política é o fortalecimento da agricultura familiar e o desenvolvimento de emprego e renda, diminuindo as desigualdades regionais (ZUANAZZI, MAYORGA, 2010).

Um outro grande estímulo do Ministério da Saúde foi a publicação, em 2009, da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS). Nessa lista constituem as plantas medicinais que evidenciam potencial para produzir produtos de utilidade ao Sistema Único de Saúde (SUS). A pesquisa clínica e o ensino para esta criação de lista são um iniciativa significativo, em virtude da orientação e informações fornecidas por meio delas. Dentre as espécies listadas, constam plantas usadas pelo conhecimento popular, com atividades biológicas já confirmadas cientificamente (BRASIL, 2009).

Na literatura, diversas plantas são citadas para patologias mentais, com destaque para as que são utilizadas para o tratamento da ansiedade, são elas: *Valeriana officinalis* (DIETZ et al., 2005), *Melissa officinalis* (GOŁYSZNY; OBUCHOWICZ et al., 2018), *Hypericum perforatum* (GOŁYSZNY; OBUCHOWICZ et al., 2018), *Passiflora incarnata* (DHAWAN et al., 2001), *Panax ginseng* (LEE; RHEE, 2017), *Humulus lupulus L.* (ZANOLI; ZAVATTI et al., 2008), *Piper methysticum* (LEHMANN et al., 1996), *Rhodiola rósea* (CROPLEY et al., 2015) entre outras.

Segundo um estudo realizado por Bezerra et al., (2021), apenas 23% dos profissionais de saúde entrevistados relataram ter tido contato com informações científicas sobre fitoterapia durante a formação profissional. Todos eles aprovam a implantação da prática oficial da fitoterapia e prescrevem rotineiramente fitoterápicos e plantas medicinais, mas desconhecem os possíveis riscos da interação medicamentosa com o uso de plantas medicinais. Assim, é importante o conhecimento das plantas, seus usos e suas funções, não só no dia a dia, mas na solução dos grandes desafios da sociedade moderna ou pós-moderna.

3.2 Aspectos gerais da ansiedade

A palavra ansiedade deriva do grego *Anshein*, que significa oprimir, sufocar. Angústia ou ansiedade são termos que se correlacionam, que exteriorizam a experiência subjetiva e são sempre associadas a manifestações de sintomas corporais (BARROS et al., 2003).

É vista como uma reação natural e primordial para a autopreservação, entretanto, é caracterizada como patologia quando se exterioriza de forma exagerada e/ou desproporcional ao estímulo ansiogênico, podendo ter consequências negativas para o indivíduo quando limita, dificulta ou impossibilita a sua capacidade de adaptação (CLAUDINO; CORDEIRO, 2016; SOARES et al., 2016).

É uma desordem psíquica cuja origem ainda não está completamente elucidada. Entende-se que as emoções, tanto as consideradas normais quanto as patológicas, exprimem-se em diferentes ramos psicológicos (afetivo, cognitivo, comportamental) e fisiológicos

(neurovegetativo, neuroendócrino) (GRAEFF, 2007). A neurobiologia da ansiedade está associada a sistemas neuroanatômicos e funcionais, como por exemplo o sistema límbico, responsável por produzir os componentes afetivos do estímulo e, conseqüentemente, ativar os sistemas endócrino e autônomo (KIM; GORMAN, 2005).

Pouco se compreende da fisiopatologia dos transtornos de ansiedade. Acredita-se que a supergeneralização do medo condicionado (DUTTS et al., 2015; DUNSMOOR; PAZ, 2015) e os déficits na extinção do medo condicionado contribuam para o desenvolvimento de transtornos de ansiedade (MILAD; ROSENBAUM; SIMON, 2014). Estudos de imagem cerebral (ressonância magnética funcional) sugerem hiperatividade em regiões límbicas, como amígdala e ínsula, durante o processamento de estímulos emocionais e conectividade funcional aberrante entre essas regiões e outras regiões presuntivamente inibitórias no cérebro, como o córtex pré-frontal medial (ETKIN; WAGNER, 2007; FONZO et al., 2015; KILGORE et al., 2014; STEIN et al., 2007).

Pesquisas realizadas com animais indicam que estados similares aos da ansiedade são mediados pela amígdala, o hipocampo, o córtex préfrontal, o locus coeruleus e a matéria cinzenta periaquedutal, sendo mediado por, pelo menos, três sistemas de neurotransmissores centrais: noradrenérgico, serotoninérgico e gabaérgico, que são sistemas profundamente afetados por compostos farmacológicos que apresentam ação ansiolítica (NARDI et al., 2012).

Dentre os transtornos de ansiedade listados pela Associação Psiquiátrica americana na 5ª edição do Manual de Diagnóstico e Estatística (DSM-V), estão: transtorno de ansiedade de separação, mutismo seletivo, fobia específica, transtorno de ansiedade social (fobia social), transtorno de pânico, agorafobia, transtorno de ansiedade generalizada, transtorno de ansiedade induzido por substância/medicamento, transtorno de ansiedade devido a outra condição médica, outro transtorno de ansiedade especificado e transtorno de ansiedade não especificado (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

A ansiedade atualmente é a sétima causa mais comum de incapacidade em todo o mundo, fato que intensificou a busca por novos tratamentos com menos efeitos adversos e melhor eficácia terapêutica (GARCÍA-RÍOS et al., 2019).

3.3 Plantas com potencial ansiolítico

O tratamento de distúrbios de humor, incluindo transtornos de ansiedade, é um dos motivos mais comuns para a busca de terapias alternativas. Esse aumento provavelmente é promovido pela necessidade atual de medicamentos eficazes e seguros para aliviar a ansiedade

e a depressão em uma porcentagem de pacientes que não respondem ou são sensíveis aos efeitos colaterais dos medicamentos atuais (BARRETO et al., 2017). De fato, a necessidade de tal tratamento também estimula o progresso em estudos fitofarmacológicos. Sarris et al. (2011) relataram que o número de artigos que lidam com os efeitos de substâncias derivadas de plantas em diferentes transtornos mentais aumentou 50%.

Os compostos ativos de plantas medicinais com potencial neuromodulador são considerados uma terapia complementar ou alternativa em relação à farmacoterapia clássica da ansiedade. Os profissionais acreditam que eles podem ser uma fonte de novos medicamentos ansiolíticos no futuro. No entanto, seu uso requer uma melhor compreensão de seus mecanismos de ação e suas interações com a terapêutica atualmente usada (GOŁYSZNY; OBUCHOWICZ et al., 2018).

Zhang et al. (2004) e Saki et al. (2014) em suas revisões mostraram uma visão geral de espécies vegetais com potencial ansiolítico, constituintes que demonstraram ter efeitos terapêuticos em modelos animais de doenças psiquiátricas e medicamentos fitoterápicos que demonstram efeitos ansiolíticos significativos em modelos animais (Quadro 1).

Quadro 1- Medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais com potencial ansiolítico

Medicamentos fitoterápicos com efeitos ansiolíticos significativos em modelos animais	Referências	Plantas medicinais com potencial ansiolítico	Referências
<i>Abies pindrow</i> R.	Zhang et al., 2004	<i>Achillea millefolium</i> ,	Saki et al. 2014
<i>Azadirachta indica</i> A.		<i>Citrus aurantium</i>	
Juss.		<i>C. sativus</i> L.	
<i>Cassia siamea</i> L.		<i>Dracocephalu polychaetum bornum</i>	
<i>Cecropia glaziouri</i> S.		<i>Foeniculum vulgare</i>	
<i>Clitoria ternatea</i> L.,		<i>Humulus lupulus</i>	
<i>Davilla rugosa</i> P		<i>Lavandula angustifolia</i> M	
<i>Euphoria longana</i> L		<i>Matricaria chamomilla</i>	
<i>Eurycoma longifolia</i> J		<i>Mentha piperita</i>	
<i>Ginkgo biloba</i> L.		<i>Nardostachys jatamansi</i>	
<i>Hypericum perforatum</i> L. (erva de São João)		<i>Ocimum basilicum</i>	
<i>Kielmeyera coriácea</i> M.		<i>Peganum harmala</i>	
<i>Magnolia officinalis</i> R. Et Wils		<i>Primula vulgaris</i>	
<i>Matricaria recutita</i> L.		<i>Prunus amygdalus</i>	

<i>Melissa officinalis</i> L.		<i>Rosa spp.</i>	
<i>Passiflora incarnata</i> L.		<i>Scrophularia striata</i>	
<i>Piper methysticum</i> L. Forster (Kava-kava),		<i>Silybum marianum</i> L	
<i>Rubus brasiliensis</i> M.		<i>Spinacia oleracea</i>	
<i>Scutellaria baicalensis</i> G.		<i>Stachys lavandulifolia</i>	
<i>Tilia tomentosa</i> M.		<i>Tilia platyphyllos</i> Scop	
Moinho de jujuba <i>Ziziphus</i>		<i>Vitex agnus</i>	
<i>Withania somnifera</i> L.		<i>Vitex agnus-castus.</i>	

Fonte: Elaborada pelo autor

Os medicamentos originados de plantas também podem ser úteis no desmame de um tratamento com benzodiazepínico ou hipnótico que podem provocar dependência rápida e potente, o que é negativo para o paciente. Nessas circunstâncias, a demanda por conselhos e alternativas das equipes de farmácias está se tornando cada vez mais significativo (TISSOT et al., 2019).

Possuir conhecimento para trabalhar com esses medicamentos naturais é um trunfo para a profissão farmacêutica e é dever do profissional ser responsável pelo uso apropriado e seguro de plantas medicinais. A escolha da planta, a mistura e a formulação galênica são importantes e a fitoterapia é o cerne da atividade farmacêutica (TISSOT et al., 2019). Com isso, métodos novos de tratamento tornam-se necessários. Estudos futuros devem considerar a investigação de alternativas aos medicamentos convencionais, como plantas medicinais (LEE; RHEE, 2017).

3.4 Família Fabaceae e gênero *Erythrina*

Fabaceae, também denominada Leguminosae, da ordem Fabales, é a terceira maior família entre as angiospermas, com mais de 700 gêneros e cerca de 20.000 espécies de árvores, arbustos, trepadeiras e ervas, com ampla distribuição mundial. As espécies lenhosas, em sua maioria, são tropicais enquanto as espécies herbáceas possui distribuição principalmente em regiões temperadas (Britannica Academic, Encyclopædia Britannica, 2017). Plantas pertencentes a esta família biossintetizam e acumulam grandes quantidades de fenólicos, particularmente flavonoides, ácidos fenólicos e taninos (HEGNAUER; RENPE; GPAYER-BARKMEIJER, 1993).

O nome do gênero *Erythrina* tem origem grega a partir da palavra *eritros*, que significa cor vermelha, referindo-se à cor das flores. Este gênero compreende cerca de 115 espécies (árvores ou arbustos e ramos armados) e se encontra amplamente distribuído em regiões

tropicais e subtropicais (GLEDHILL, 2008). Este gênero compreende cerca de 115 espécies, e se encontra amplamente distribuído em regiões tropicais e subtropicais (ARITA et al., 2014; GLEDHILL, 2008).

Em 1877, teve início o estudo do gênero *Erythrina* devido à descoberta da ação farmacológica do extrato das sementes da *E. americana*, por Dominguez e Altamirano, que possuía efeitos semelhantes aos da d-tubocurarina (substância extraída de *Chondodendron tomentosum*). Após essa descoberta, os extratos de diferentes espécies de *Erythrina* passaram a ter seus perfis fitoquímicos e farmacológicos pesquisados (GARÍN-AGUILAR et al., 2000; CHACON et al., 2021).

As espécies deste gênero são famosas por apresentarem diferentes classes de compostos como alcaloides, flavonoides e terpenos. Os alcaloides *Erythrina* são característicos deste gênero com mais de cem derivados estruturais já descritos (AMER; SHAMMA; FREYER, 1991; JUMA, et al., 2004; TANAKA et al., 2001; WANJALA et al., 2000; WANJALA et al., 2002).

No Brasil, existem 13 espécies: *Erythrina amazonica* Krukoff, *Erythrina corallodendron* L., *Erythrina crista-galli* L., *Erythrina falcata* Benth., *Erythrina fusca* Lour., *Erythrina mulungu* Mart., *Erythrina nervosa* DC., *Erythrina poeppigiana* (Walp.) O.F. Cook, *Erythrina similis* Krukoff, *Erythrina speciosa* Andrews, *Erythrina ulei* Harms, *Erythrina velutina* Willd., *Erythrina verna* Vell (MARTINS, 2015). Com isso, as espécies de *Erythrina* representam um campo de estudo interessante.

As espécies de *Erythrina* fazem parte da medicina tradicional popular devido às suas propriedades ansiolíticas (GARÍN-AGUILAR et al., 2000). Dentre elas destacam-se a *E. velutina* por ser utilizada popularmente como sedativa e calmante natural para problemas como estresse, ansiedade, depressão e insônia (PALUMBO; GARDIN; NAKAMURA, 2016).

3.5 *Erythrina velutina* Willd.

Erythrina significa vermelho e velutina (de origem Latina) refere-se ao fato da folha apresentar indumento de delicados e macios pelos. (CARVALHO, 2008). Possui sinônimas científicas como *Erythrina aculeatissima* Desf., *Erythrina splendida* Diels, *Corallodendrum velutinum* (Willd.) Kuntze *Chirocalyx velutinus* Walp. (LORENZI; MATOS, 2002).

Conhecida popularmente como mulungu (do tupi, mussungú ou muzungú e do africano mulungu que significa “pandeiro”, talvez pela batida no seu tronco oco emitir som), suinã, canivete, corticeira, pau-de-coral, sanaduí, sanaduva, saranduba, maçaranduba, bico-de-pássaro

dentre outros (LORENZI, 1992), é uma espécie arbórea nativa que possui distribuição geográfica nos estados do Nordeste, no vale do São Francisco e no Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo), com dispersão mais ligada às subáreas úmidas das margens de rios, ou áreas rebaixadas, um pouco alagáveis durante a época das chuvas. Também é encontrada na ilha de Fernando de Noronha e nas Antilhas, no norte da Venezuela, no norte da Colômbia, no Equador, nas ilhas Galápagos e no Peru (MARTINS, 2018; SANTOS et al., 2013; CARVALHO, 2008; LORENZI, 1992).

A espécie apresenta diversas funcionalidades que vão desde o sombreamento dos cacauzeiros, confecção de tamancos e jangadas, mourões de cerca e arborização de praças e parques públicos até seu uso etnofarmacológico (CARVALHO et al., 2008; LORENZI; MATOS, 2008).

É uma árvore decídua, de copa aberta e arredondada, florífera e ornamental, espinhenta, com altura de 6 a 12 m, de acordo com a (Figura 1) (PALUMBO; GARDIN; NAKAMURA, 2016). O tronco varia de 40 a 70 cm de diâmetro e sua casca do caule é lisa a levemente áspera (SILVA et al., 2013). Apresenta folhas compostas trifolioladas, alternas e de base simétrica, de folíolos cartáceos, velutino-pubescentes, medindo de 3 a 12 cm de comprimento, como mostra a (Figura 1) (PALUMBO; GARDIN; NAKAMURA, 2016). As flores são de cor vermelho coral, grandes, dispostas em panículas racemosas com raque pulverulenta, que se formam com a árvore totalmente desprovida de folhagem, como mostra a (Figura 1) (PALUMBO; GARDIN; NAKAMURA, 2016). Suas flores aparecem surgem de outubro a dezembro nas copas despidas de folhas (CARVALHO, 2008).

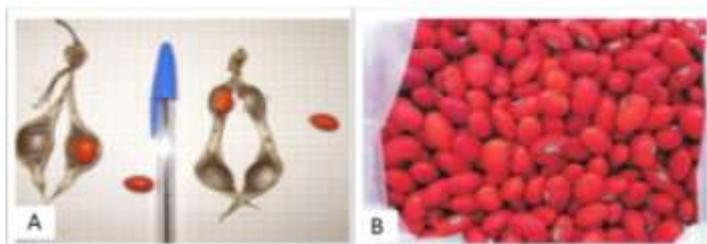
Figura 1 – *E. velutina* em destaque folhas e flores



Fonte: HENRIETTE KRESS (2008); MARTINS, (2015).

Os frutos possuem forma de legume um tanto curvo, são deiscentes quando maduros e de coloração marrom, com ápice e base aguda, internamente não-septado e com 1-4 sementes (Figura 2) (CARVALHO, 2008; SILVA et al. 2013). Os frutos amadurecem de janeiro a fevereiro (LORENZI, 2002).

Figura 2 – Fruto (A) e sementes de *E. velutina* Willd (B)

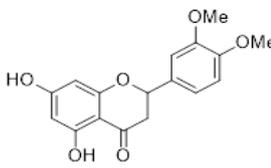
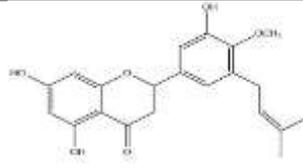
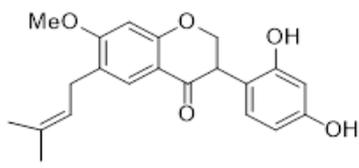
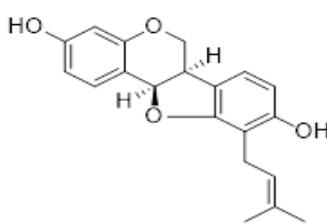
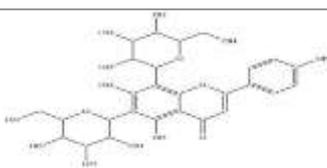
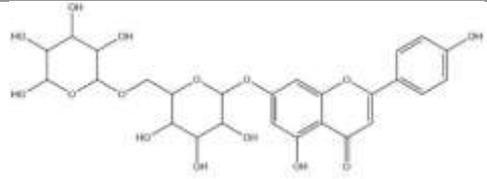


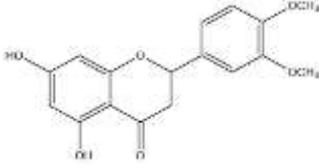
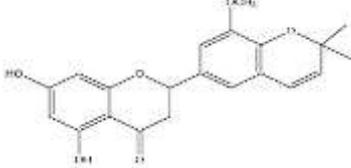
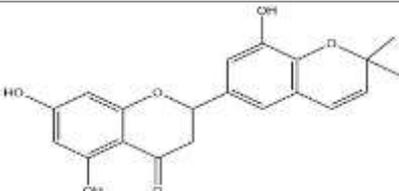
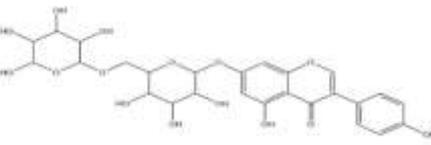
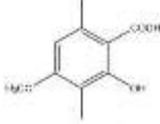
Fonte: COELHO, (2003); DANTAS; DA SILVA; RIBEIRO (2013).

A casca de *E. velutina* é muito utilizada na medicina popular como sudorípara, calmante e no tratamento de verminoses (RABELO et al., 2001). O fruto seco apresenta ação anestésica local (LORENZI; MATOS, 2002). O decocto das cascas é utilizado para acelerar a maturação de abscessos gengivais. Ao decocto das cascas, atribui-se as propriedades como calmante e sedativo de tosses e bronquites, além de ser empregado no tratamento de verminoses e hemorroidas. (CARVALHO et al., 2008). Diversas atividades foram relatadas para o extrato alcoólico da casca do caule como: antibacteriana (VIRTUOSO et al., 2005), analgésica (VASCONCELOS et al., 2003), ansiolítica (VASCONCELOS et al., 2004; RIBEIRO et al., 2006) e anticonvulsivante (VASCONCELOS et al., 2007).

Os flavanoides são principalmente as flavanonas, isoflavanonas, isoflavonas e pterocarpanos (Quadro 2) que exibem inúmeras atividades biológicas: citotóxica em diferentes linhas celulares de câncer (PASSREITER et al., 2015), anti-inflamatória (TOGOLA et al., 2009), antidiabética (CUI et al., 2007), antimicrobiana (TANAKA et al., 2001), anti- HIV (LEE et al., 2009) e anti-plasmodial (RUKACHAISIRIKUL et al., 2008). No quadro 2 estão dispostos os flavanoides encontrados na literatura para a espécie de *E. velutina*.

Quadro 2 - Flavonoides encontrados para a espécie de *E. velutina*.

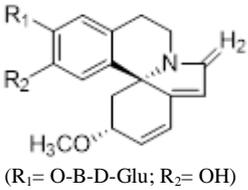
Composto	Partes da planta	Estrutura química	Referências
FLAVANONAS			
Homoesperitina	Cascas		FAHMY et al, 2019; RABELO et al., 2001. SILVA et al., 2016.
4-O-metil sigmoidina B	Cascas		FAHMY et al, 2019; RABELO et al., 2001; DA-CUNHA, 1996.
ISOFLAVANONAS			
AGLICONES DE ISOFLAVONA			
Erivelutinona	Cascas		FAHMY et al, 2019; RABELO et al., 2001; DA-CUNHA, 1996;
PTEROCARPANO			
Faseolidina	Cascas		FAHMY et al., 2019; RABELO et al., 2001. CABRAL, 2009.
OUTROS FLAVONOIDES			
Apigenina-6,8-di-C-β-glucosídeo (vicenina II)	Folhas		PASSOS et al., 2013.
Apigenina-7-O-rutinosídeo (isorhoifolin)	Folhas		PASSOS et al., 2013.

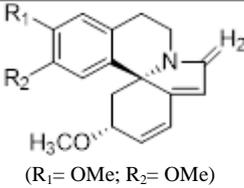
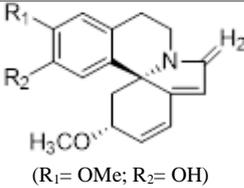
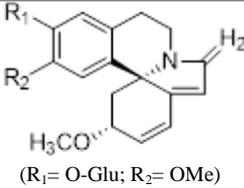
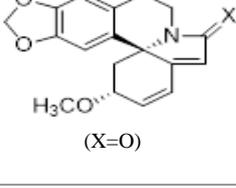
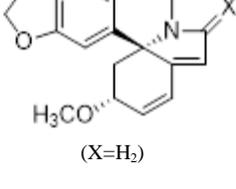
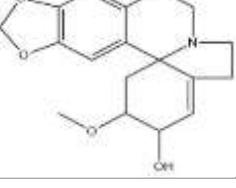
Hesperidina	Cascas		SILVA et al., 2016.
Abssinina	Cascas		SILVA et al., 2016.
Sigmoidina C	Cascas		SILVA et al., 2016.
7-0(a-ramnopiranosil-B-glucopyranoside)-genisteina	Cascas		CABRAL, 2009.
Ácido rizônico	Cascas		SILVA et al., 2016.

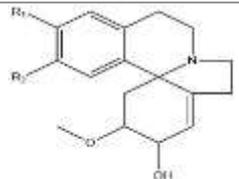
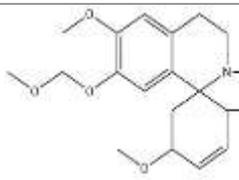
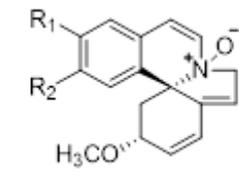
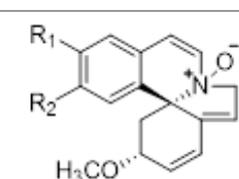
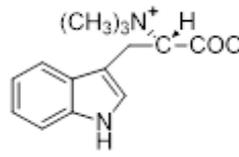
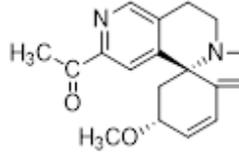
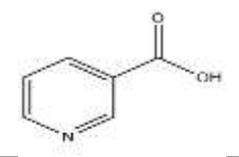
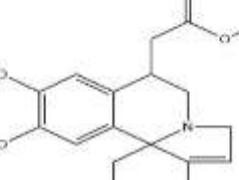
Fonte: Própria (2021).

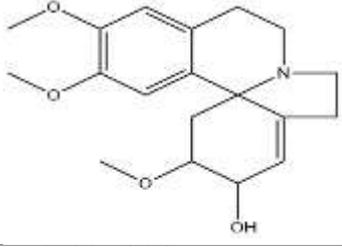
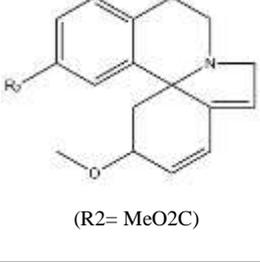
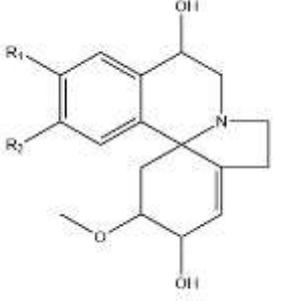
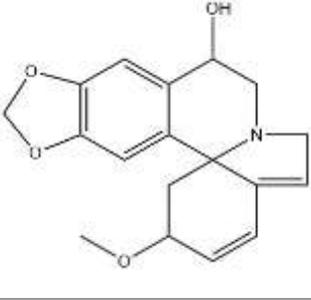
Alcaloides tetracíclicos tipo eritrina como a (+)- eritralina e a (+)- eritratina (Quadro 3) foram isoladas da *Erythrina velutina* com propriedades ansiolíticas (RAMBO et al., 2019). No quadro 3 estão dispostos os alcaloides encontrados na literatura para a espécie de *E. velutina*.

Quadro 3 – Alcaloides encontrados para a espécie de *E. velutina*.

Composto	Partes da planta	Estrutura química	Referências
16- O - β-d-Glucopiranosil coccolina	Sementes		RAMBO et al., 2019; OZAWA, KISHIDA, OHSAKI, 2011.

Erysotrine N-óxido de eritodina	Sementes	 <p>(R₁= OMe; R₂= OMe)</p>	RAMBO et al., 2019; OZAWA et al., 2009.
Erysovine Erisovina	Sementes Bark	 <p>(R₁= OMe; R₂= OH)</p>	RAMBO et al., 2019; OZAWA et al., 2009. CABRAL, 2009.
Glucoerysodine	Sementes	 <p>(R₁= O-Glu; R₂= OMe)</p>	RAMBO et al., 2019; OZAWA et al., 2009.
Sodium erysovine 15-O-sulfate	Sementes	 <p>(R₁= OMe; R₂= SO₃Na)</p>	RAMBO et al., 2019; OZAWA, KISHIDA, OHSAKI, 2011.
Erysopine 15-O- sulfate	Sementes	 <p>(R₁= H; R₂= SO₃H)</p>	RAMBO et al., 2019; OZAWA, KISHIDA, OHSAKI 2011.
8-Oxo-erythraline	Sementes	 <p>(X=O)</p>	RAMBO et al., 2019; OZAWA et al., 2009.
Erythraline	- Sementes	 <p>(X=H₂)</p>	AMER; SHAMMA; FRYER, 1991 OZAWA et al., 2009;
Erythratine	-		AMER; SHAMMA; FRYER, 1991

Erysotine or erisosalvine	Cascas	 <p>Erysovine ($R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$) Erisosalvine ($R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OH}$)</p>	LEAL, 2018
Erythroculin	Cascas		LEAL, 2018
Erysodine N-oxide	Sementes	 <p>($R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{SO}_3\text{H}$)</p>	RAMBO et al., 2019; OZAWA et al., 2009.
Sodium erysovine N-oxy-15-O-sulfate	Sementes	 <p>($R_1 = \text{OMe}$; $R_2 = \text{OSO}_3\text{Na}$)</p>	RAMBO et al., 2019; OZAWA, KISHIDA, OHSAKI 2011.
Hypaphorine	Sementes		RAMBO et al., 2019; OZAWA et al., 2008.
Erymelanthine	Sementes		RAMBO et al., 2019. OZAWA et al., 2009.
Nicotinic acid	Folhas		LOPES, 2010.
Erythrascin	Cascas		LEAL, 2018.

Erythrathin or its epimer	Cascas		LEAL, 2018.
Erimelantine	Cascas	 (R2= MeO2C)	LEAL, 2018.
Hydroxierisovalina / hydroxierisotina	Cascas		LEAL, 2018.
Erythrinine	Cascas		LEAL, 2018.

Fonte: Própria (2019).

O uso mais popular da *E. velutina* é a administração oral do extrato aquoso (infusão ou decocção) ou de uma tintura (extrato etanol / água) que é preparada a partir de casca de caule recém-colhida (TESKE; TRENTINI, 1995; MATOS, 1997). Diversas atividades farmacológicas têm sido investigadas e reportadas na literatura para a espécie *E. velutina* em vários modelos animais realizados *in vivo* (Quadro 4) e algumas das atividades biológicas investigadas reforçam os usos etnofarmacológicos, sendo a principal atividade relatada, para extratos de eritrina e alcaloides isolados, a ansiolítica (RABELO et al., 2001; DANTAS et al., 2004; VASCONCELOS et al., 2004; RIBEIRO et al. 2006; OZAWA et al., 2008).

Portanto, a espécie *E. velutina* possui estruturas com várias propriedades biológicas e têm atraído recentemente atenção como meta sintética (OZAWA, KISHIDA, OHSAKI, 2011).

Quadro 4 – Efeitos biológicos de *E. velutina*.

ATIVIDADE	PARTE DA PLANTA	EXTRATO	REFERÊNCIAS
Ansiolítica	Folhas	Hydroalcoholic Extracts	DANTAS et al., 2004.
	Cascas	Hydroalcoholic Extracts	VASCONCELOS et al., 2004.
	Cascas	Hydroalcoholic Extracts	RIBEIRO et al., 2006.
	Sementes	Isolated alkaloids	OZAWA et al., 2009.
	Cascas	Hydroalcoholic Extracts	RAUPP et al., 2008.
	Folhas	Alcohol Extract	TEIXEIRA-SILVA et al., 2008.
Antipsicótica	Cascas	Ethanollic extract	XIMENES et al., 2018.
	Folhas	Standardized extract	DIAS et al., 2018.
Neuroprotetora	Cascas	Standardized Ethanolic Extract and Rhizonic Acid	SILVA et al., 2016.
Anticonvulsivante	Cascas	Hydroalcoholic Extracts	VASCONCELOS et al., 2007.
	Folhas	Alcohol Extract	TEIXEIRA-SILVA et al., 2008.
Mecanismo de ação no sistema nervoso central	Folhas	Aqueous extract	CARVALHO et al, 2009.
	Folhas	Extrato metanólico (fases orgânicas)	LOPES, 2010.
	Cascas	Extrato padronizado	VASCONCELOS et al., 2014.
Antinociceptiva	Cascas	Extrato hidroalcoólico	VASCONCELOS et al., 2003.
	Folhas	Extrato aquoso	MARCHIORO et al., 2005.
Anticolinesterásica	Folhas	Extrato rico em alcaloides	SANTOS et al., 2012.
	Cascas	Extrato etanólico	RODRIGUES et al., 2017.
Anti-inflamatória	Cascas	Extrato hidroalcoólico	VASCONCELOS et al., 2011.
	Sementes	Inibidor de quimi tripsina purificado	MONTEIRO, 2011.
	Sementes	Inibidor de tripsina purificado	MACHADO et al., 2013.
Antitumoral	Sementes	Alcaloides isolados	OZAWA et al., 2009.
	Sementes	Inibidor de quimotripsina purificado de Kunitz	LUCENA, 2022.

	Folhas	Extrato aquoso	SILVA et al., 2013.
Antioxidante	-	Flavonóides isolados	MONTE et al., 2014
Antimicrobiana	Cascas	Extrato etanólico	VIRTUOSO et al., 2005.
	Folhas	Extrato metanólico e fração hexânica	LOPES, 2010.
Ação relaxante	Folhas	Extrato aquoso	SANTOS et al., 2007.
Efeito inotrópico positivo	Folhas	Extrato hidroalcoólico (fração de acetato de etila)	PASSOS et al., 2013.
Fotoprotetora e antioxidante	Folhas	Extrato hidroalcoólico	RAMOS et al., 2020.

Fonte: Própria (2019).

Dessa forma, a busca por informações acerca da atividade farmacológica do infuso das cascas de *E. velutina* é imprescindível e de suma importância para garantir ou não o uso popular da planta no tratamento ao transtorno da ansiedade, bem como contribuir para o desenvolvimento de novos medicamentos fitoterápicos. Além disso, colabora com os estudos englobando a toxicidade do chá.

4 METODOLOGIA

4.1 Material vegetal e obtenção do extrato

As cascas foram coletadas em agosto de 2019 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.

O material vegetal foi seco a 40 °C em estufa com circulação de ar, até obter peso constante (Figura 3). Em seguida, as cascas secas foram trituradas em um moinho de facas no Laboratório de Sementes do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus de Picuí, para a obtenção do pó finamente granulado.

Figura 3 – Cascas de *E. velutina* e o processo de secagem em estufa com circulação de ar e moinho de facas



Fonte: Elaborada pelo autor.

Com a obtenção da droga vegetal foi possível a realização da análise visual e organoléptica, em seguida as amostras foram transferidas para um recipiente rotulado adequado e armazenado.

4.2 Determinação do tamanho de partículas

A determinação da granulometria dos pós foi feita de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2019) e foi analisada com o auxílio de tamises operados manualmente, com movimentos horizontais e verticais da operação manual com seis numerações: 710, 355, 180, 150, 75, 38 μ m de acordo com as características da amostra. O conjunto foi montado com o tamis de maior abertura sobre o de abertura menor e colocado sobre o receptor de tamises. Foi pesado cerca de 25 g da amostra, que foi transferida para o tamis superior, distribuindo

uniformemente o pó. Após isso, com o auxílio de um pincel adequado, foi removida toda a amostra retida na superfície superior de cada malha para um papel impermeável e em seguida o pó foi pesado. O pó retido no coletor também foi pesado. Foi calculado o percentual retido em cada tamis, utilizando o seguinte cálculo:

$$\% \text{ Retirada pelo tamis} = \frac{P_1}{P_2} \times 100$$

em que:

- P1 = peso da amostra retida em cada tamis (em gramas);
- P2 = soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (em gramas);

A droga vegetal obtida nestas diferentes granulometrias foi acondicionada separadamente em frascos de polietileno branco fosco, nomeados de EV01 a EV06 (EV01, EV02, EV03, EV04, EV05 e EV06), seguindo a ordem crescente de tamanho de partículas, onde a partícula EV01 é a de menor tamanho e a EV06 de maior, e posteriormente foram devidamente fechados e protegidos luz e da umidade, e armazenados em temperatura ambiente.

4.3 Controle de qualidade da droga vegetal

A qualidade da droga vegetal foi determinada por meio de testes adaptados da Farmacopeia Brasileira (2019).

- Densidade aparente: Amostras de 10 g foram pesadas (n = 3), transferidas para provetas de 25 mL e submetidas a 100 batidas em superfície plana, nas quais foi avaliado o volume ocupado. A densidade foi dada pela razão massa/volume.
- Determinação do pH: Uma solução aquosa contendo o pó da droga vegetal foi preparada e o pH medido através de tiras indicadoras da marca MN Macherey-Nagel.
- Determinação do índice de espuma: Amostras de 1 g (n=3) do material vegetal reduzido a pó fino foi transferido para *erlenmeyer* contendo 50 mL de água fervente. Manteve-se sob fervura durante 30 minutos. Em seguida foi resfriada, filtrada para balão volumétrico de 100 mL e o volume completado, através do filtro, para 100 mL. O filtrado obtido foi distribuído em 10 tubos de ensaio com tampa em séries sucessivas de 1, 2, 3, até 10 mL. O volume do líquido foi completado em cada tubo para 10 mL com água. Os tubos foram tapados e agitados com movimentos verticais por 15 segundos, com duas agitações por

segundo. Foi deixado em repouso por 15 minutos e a altura da espuma foi medida através de uma régua. Dessa forma, é obtido o índice de espuma dividindo 1.000 pelo volume (mL) do extrato adicionado ao tubo de maior diluição que apresente altura de espuma igual a 1 cm (Brasil, 2010).

Por conceito, o índice de espuma expressa a quantidade de líquido extrator que seria necessário para produzir um extrato aquoso (decoto) com um grama da droga vegetal que exiba anel de espuma com 1 cm de espessura após agitados, nas condições do experimento.

- Determinação do índice de intumescência: Amostras de 1 g (n=3) da droga vegetal pulverizada foi transferida para proveta de 25 mL de boca esmerilhada. Adicionou-se 25 mL de água e agitou-se a cada 10 minutos, por uma hora. A mistura ficou em repouso por três horas, à temperatura ambiente. O volume, em mililitros, ocupado pelo material vegetal acrescido da mucilagem ou qualquer outro material aderido subtraído do volume inicial da droga foi medido. Foi calculado o valor médio obtido a partir das determinações individuais realizadas e relacionado a 1 g de material vegetal.

4.4 Análise fitoquímica

Foi realizado um estudo quantitativo, por espectrofotometria na região do visível, utilizando o espectrofotômetro (Shimadzu Uvmini-1240), para a determinação dos metabólitos secundários (polifenóis totais, flavonoides totais e taninos condensados) presentes nos extratos das diferentes espécies vegetais. Os comprimentos de onda foram escolhidos a partir de registros descritos em metodologias de referência com comprimento de onda de maior absorbância para cada metabólito.

4.4.1 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 da *DVEv* 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 1N 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 Na₂CO₃ 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 da *DVEv* foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorvância espectral obtida através da curva de calibração. O resultado da absorvância 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 absorvância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores do que zero e estavam dentro dos limites de absorvância de trabalho.

4.4.2 Determinação do teor de flavonoides totais

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 2 e 28 µg mL⁻¹, de quercetina, analisadas em aparelho anteriormente descrito, para a leitura da absorvância em 415 nm. As leituras das amostras da *DVEv* foram realizadas na presença de soluções do cloreto de alumínio relacionando os valores de absorvância 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 AlCl₃ 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 da *DVEv* foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorvância espectral, obtida através da curva de calibração. O resultado da absorvância 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 absorvância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores que zero e estavam dentro dos limites de absorvância de trabalho.

4.4.3 Determinação do teor de taninos condensados

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 10 e 100 µg mL⁻¹ de catequina analisadas em aparelho anteriormente descrito, para a leitura da absorvância 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 absorvância 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 da *DVEv* foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorvância espectral, obtida através da curva de calibração. O resultado da absorvância 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 absorvância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores que zero e estavam dentro dos limites de absorvância de trabalho.

4.5 Análise térmica

4.5.1 Termogravimetria (TG)

As curvas termogravimétricas dinâmicas do pó das cascas de *E. velutina* nas diferentes granulometrias (EV01, EV02, EV03, EV04, EV05, EV06) foram obtidas em uma balança modelo DTG-60, da Shimadzu, na razão de aquecimento de 10° C min⁻¹, variando de 30°C até temperatura de 900°C. Utilizou-se atmosfera de nitrogênio e de ar sintético, com fluxo de 50 mL min⁻¹. Foi utilizando massa de 5 a 8 mg, acondicionada em cadinho de alumina aberto para cada amostra. As curvas foram analisadas através do software Tasy 60, da Shimadzu, para caracterizar as etapas de perda de massa.

4.5.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

As curvas térmicas diferenciais do pó das cascas de *E. velutina* nas diferentes granulometrias (EV01, EV02, EV03, EV04, EV05, EV06) nas diferentes granulometrias foram obtidas em uma balança modelo DTG-60, da Shimadzu, na razão de aquecimento de 10° C min⁻¹, variando de 30°C até temperatura de 400°C. Utilizou-se atmosfera de nitrogênio e de ar sintético, com fluxo de 50 mL min⁻¹. Foi utilizando massa de 5 a 8 mg, acondicionada em cadinho de alumínio hermeticamente fechados para cada amostra. As curvas foram analisadas através do software Tasy 60, da Shimadzu.

4.6 Citotoxicidade em Eritrócitos

A preparação das hemácias para o teste de citotoxicidade seguiu a metodologia descrita por Cruz-Silva et al (2000) com algumas modificações. Para a realização do teste foi selecionado o pó EV01. Foi utilizado sangue humano para a realização do experimento, sendo os tipos sanguíneos utilizados (A, B e O) doados por voluntários da própria instituição, foram coletados pelo laboratório de Análises Clínicas da UEPB, acondicionado em tubos com heparina. O plasma foi retirado após centrifugação a 2000 rpm por 5 minutos. Posteriormente, a suspensão de hemácias foi lavada com solução salina na proporção de 1:1 e centrifugada a 2000 rpm durante 5 minutos para obtenção dos eritrócitos, este procedimento foi repetido por mais duas vezes e o sedimento da última centrifugação foi suspenso em NaCl 0,9%. As hemácias foram ressuspensas com a mesma solução e o volume foi ajustado para 5%. Então, colocou-se 1mL da suspensão de hemácias a 5% juntamente com 1mL das soluções da *DVEv* nas concentrações de 1,25; 2,5 e 5 mg/mL em tubos de ensaio, os quais foram deixados em repouso durante 1 hora à temperatura ambiente para que ocorresse a hemólise. Após esse período, cada tubo foi centrifugado a 2500 por 10 minutos, sendo o sobrenadante retirado para leitura em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 540 nm (CRUZ-SILVA et al., 2001).

Como controle positivo, foi utilizado o líquido de Turk a **2%** uma vez que, essa substância causa 100% de hemólise e como controle negativo foi utilizada solução salina a 1%, que não causa hemólise alguma. A análise foi feita em triplicata. O percentual hemolisante foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

$$Ph = \frac{Ae - Ab}{At} \times 100$$

Onde:

- Ph: potencial hemolisante (em porcentagem).
- Ae: absorvância da amostra teste.
- Ab: absorvância do branco da amostra.
- At: absorvância do controle positivo.

Um percentual de hemólise considerado baixo deve estar entre 0 e 40%, moderado entre 40% e 80% e um alto percentual de hemólise compreende valores entre 80 e 100% (ASSUNÇÃO, 2017).

4.7 Prospecção da atividade biológica do chá de *E. velutina*

4.7.1 Produção do chá das cascas de *Erythrina velutina*

Foi realizada a decocção da DVE_v, onde se pesou 5 g, 10 g e 20g da droga vegetal, sendo adicionados 100 mL de água destilada. A solução foi colocada sob uma tela de amianto e aquecida com o auxílio de um bico de bunsen, até atingir seu ponto de ebulição. Em seguida, a solução foi resfriada a temperatura ambiente e posteriormente filtrada. Ao final do processo, se obteve o chá na concentração de 5 %, 10 % e 20 % (m/v).

Figura 4 – Chá da DVE_v na concentração de 5 %, 10 % e 20 % (m/v).



Fonte: Elaborada pelo autor

4.7.2 Toxicidade Aguda Oral

Foram utilizados 5 camundongos fêmeas e 5 machos, seguindo as orientações do 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. Os animais do grupo controle negativo receberam solução salina a 0,9% (10 mL. kg⁻¹) por sonda intragástrica (gavagem) e os animais do grupo experimental receberam o chá (2000 mg.kg⁻¹) pela mesma via. Foram realizadas observações comportamentais sistemáticas nos tempos de 30 min, 1h, 2h, 4h após a administração e, a partir de então, diariamente, até o décimo quarto dia, por meio do *screening* hipocrático (ALMEIDA, 2006). O protocolo de triagem farmacológica comportamental segue em anexo.

Foi observado parâmetros como consumo de água e ração a cada 24 horas durante 14 dias e a massa corporal ao final dos 14 dias, quando os animais foram pesados, anestesiados e em seguida submetidos a eutanásia, sendo os órgãos (coração, fígado, baço, rins e estômago) retirados, pesados e avaliados microscopicamente.

4.8 Atividade ansiolítica

4.8.1 *Desenho experimental*

O protocolo foi proposto para avaliar os efeitos comportamentais e ansiolíticos da administração do chá das cascas de *E. velutina*. Uma investigação do potencial ansiolítico do chá foi realizada por meio dos testes de labirinto em cruz elevado, teste de movimentação espontânea e teste de barra giratória (*rota rod*), ambos de forma aguda. Os animais utilizados no experimento foram camundongos heterogênicos, da linhagem *Mus musculus* – Swiss. Para a realização de cada experimento os animais foram separados em 5 grupos com 8 animais cada (RAUPP et al, 2008), que foram selecionados de acordo com a randomização dos animais pela idade para receber um dos tratamentos.

A droga de referência (diazepam) e o chá foram preparados imediatamente antes de cada teste, sendo que cada animal recebeu 10 mL.kg⁻¹ de seu peso. As administrações dos tratamentos foram realizadas por sonda intragástrica (gavagem). Foram 3 grupos testes (chá de *E. velutrina* 5, 10 e 20 %, m/v), grupo controle negativo (solução salina) e como grupo padrão, o diazepam na dose de 1mg.kg⁻¹. Os experimentos foram realizados no Biotério Professor Eduardo Barbosa Beserra, Câmpus I da Universidade Estadual da Paraíba.

Método de eutanásia: todos os animais foram eutanasiados com uma injeção de anestésicos, associação de ketamina 10% e xilazina 2% via intraperitoneal, como recomendado pelas Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA de 2018, referente a roedores e pequenos mamíferos.

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 005/2020, cuja declaração encontra-se em anexo.

4.8.2 *Testes comportamentais*

4.8.2.1 *Teste em Labirinto cruz elevada (TLCE)*

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

- Grupo 1: grupo controle negativo, receberam solução salina;
- Grupo 2: grupo controle positivo: receberam a droga de referência (diazepam 1 mg);

- Grupo 3 tratados: receberam o chá das cascas de *E. velutina* 5%
- Grupo 4 tratados: receberam o chá das cascas de *E. velutina* 10%
- Grupo 5 tratados: receberam o chá das cascas de *E. velutina* 20%

Uma hora minutos após a administração dos tratamentos, cada animal foi submetido ao TLCE individualmente (Figura 5). O tempo de permanência de cada animal foi de 5 minutos, onde foi avaliado as entradas e tempo de permanência no braço, e 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 5 –Teste em Labirinto cruz elevada (TLCE)



Fonte: Elaborada pelo autor.

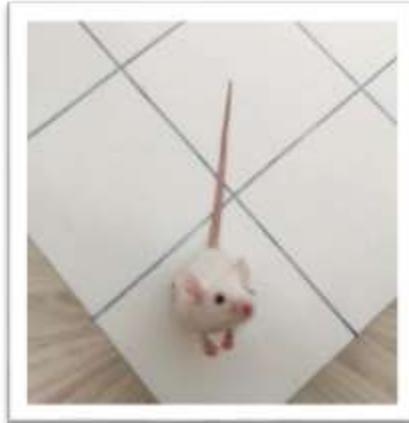
Só foi considerada “entrada” em um dos braços do labirinto quando as quatro patas do animal atravessavam o limite do braço em questão. A porcentagem de entradas nos braços abertos e a porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos do TLCE foram calculadas de acordo com as seguintes fórmulas:

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

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

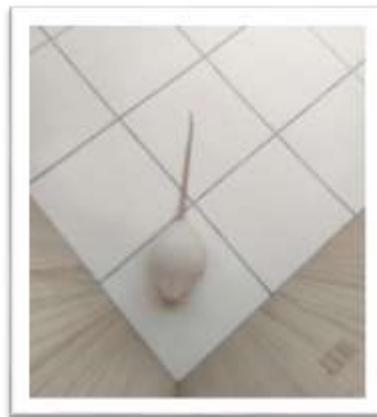
Foram realizadas as medidas etológicas selecionadas para a análise deste estudo (RODGERS et al., 1995):

Figura 6 – Medidas etológicas: *Rearing* (levantar-se).



Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 7 – Medidas etológicas: *grooming* (autolimpeza)



Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 8 – Medidas etológicas *Head dippings* (mergulhos de cabeça)



Fonte: Elaborada pelo autor

4.8.2.2 Teste da movimentação espontânea

O teste de movimentação espontânea (TME), que fornece medidas simultâneas de locomoção, exploração e ansiedade, foi utilizado para este estudo. O campo aberto (Figura 9) é arena de 300x300 mm com finas listras pretas pintadas no chão, dividindo-a em 16 blocos quadráticos (MAHENDRA, SHRADHA, 2011). Os camundongos após passarem pelo teste de labirinto em cruz foram colocados no centro da arena e um observador quantificou a locomoção ambulatorial espontânea (nº de quadrados cruzados, nº de *rearings* e nº *grooming*) de cada camundongo por 5 min (ALMEIDA, 2006).

Figura 9 – Teste da movimentação espontânea



Fonte: Elaborada pelo autor

4.8.2.3 Teste de barra giratória (rota rod)

O teste da barra giratória (*rota rod*) baseia-se em colocar os roedores sobre uma barra giratória a uma velocidade constante e monitorar a capacidade dos mesmos em manter-se em equilíbrio sobre ela e, assim, medir o efeito de relaxamento muscular ou de incoordenação motora dos animais produzidas por substâncias com propriedades ansiolíticas (ALMEIDA, 2006).

Este aparato está mostrado na figura 4 e consiste em uma barra plástica rugosa de 3 cm de diâmetro e 50 cm de comprimento que gira a uma velocidade de 5 rpm. Esta barra é dividida em 5 seções iguais para possibilitar a avaliação individual de 5 animais ao mesmo tempo. A altura da barra em relação à base do aparelho é de 25cm.

Uma hora após a administração dos tratamentos citados nos testes anteriores, cada animal foi colocado individualmente sobre a barra giratória a uma velocidade constante e foram monitorados em relação a capacidade dos mesmos em manter-se em equilíbrio sobre (ALMEIDA, 2006). O grupo controle positivo foi avaliado após trinta minutos da administração da droga de referência.

4.8.2.4 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 Processamento da droga vegetal

Após a secagem e moagem das cascas obteve-se um pó de cor castanho-claro (Figura 5), com tamanhos e formatos de partículas variados, sabor amargo e odor característico. O rendimento total após moída foi de 867 g de droga vegetal.

Figura 10 – Droga vegetal, pó de *DVEv*



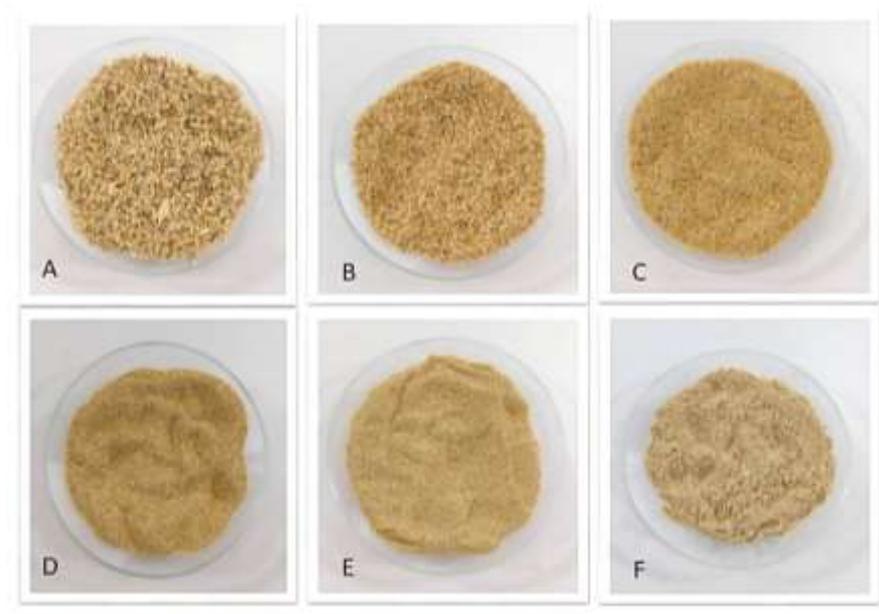
Fonte: Elaborada pelo autor.

➤ *Granulometria*

Durante o processo de produção de drogas vegetais, o controle da granulometria é uma etapa importante, uma vez que os diferentes tamanhos das partículas influenciam diretamente nas características do produto final, pois qualquer alteração em sua granulação durante a produção pode resultar em partículas com tamanhos heterogêneos e não uniformes. Portanto, os métodos analíticos preconizados pelas agências regulatórias, como a ANVISA, são importantes para a caracterização de materiais fitoterápicos, garantindo a eficácia e efetividade de seu uso pelas empresas durante as etapas de produção e controle de qualidade do chá (ANDRADE et al., 2019).

Após a tamisação *DVEv*, obteve-se a separação do pó em seis diferentes tamanhos de partículas (Figura 6), de acordo com as malhas do tamis. A malha de 355 μm (EV05) foi a que reteve maior quantidade de pó (40,71 %), como demonstrado na (Tabela 1). A distribuição granulométrica do pó da casca do caule de *E. velutina* permitiu classificá-lo como pó grosso, de acordo com a Farmacopéia Brasileira 6ª Edição (2019).

Figura 11 - Droga vegetal obtida a partir da casca de *E. velutina* separada em 6tam (malhas 710, 355, 180, 150, 75, 38 μm).



Fonte:

A: EV06 (malha 710 μm), B: EV05 (malha 355 μm), C: EV04 (malha 180 μm), D: EV03 (malha 150 μm), E: EV05 (malha 75 μm), EV06 (malha 38 μm).

Tabela 1 - Porcentagem de pó obtida após o processo de tamisação.

<i>DVEv</i>	TAMIS (MALHA μM)	MASSA (G)	% DE PÓ OBTIDO
EV06	710	28,80	9,87
EV05	355	118,75	40,71
EV04	180	79,30	27,18
EV03	150	12,01	4,11
EV02	75	26,26	9,00
EV01	38	26,55	9,10

Fonte: Elaborada pelo autor

A Farmacopeia Brasileira (2019) não estabelece parâmetros de valores para alguns desses testes, incluindo a granulometria. No entanto, eles possibilitam uma caracterização da droga vegetal para fins de controle da qualidade, sendo a granulometria uma etapa importante que permite a determinação da superfície de contato disponível para interação com solventes utilizado na obtenção de preparações intermediárias líquidas (tinturas e extratos) (BABY et al., 2005).

5.2 Controle de qualidade da droga vegetal

Os parâmetros físico-químicos foram avaliados com a finalidade de estabelecer um controle de qualidade mais rigoroso da droga vegetal. A Farmacopeia Brasileira preconiza

alguns parâmetros, como por exemplo exame sensorial, determinação do índice de espuma e determinação do índice de intumescência que devem ser seguidos para matéria-prima de origem vegetal e alguns desses foram realizados no estudo. No entanto, para alguns testes não dispõe de valores pré-estabelecidos.

➤ **Densidade aparente**

Os resultados da densidade dos diferentes tamanhos de partículas da *DVEv* avaliados estão expressos na tabela 2. A densidade aparente para as partículas é uma exigência estabelecida pela RDC n. 14/2010 ANVISA, uma vez que permite a manipulação correta de medicamentos fitoterápicos como, por exemplo, na produção de cápsulas. A densidade aparente para casca de *E. velutina* variou de acordo com o tamanho de partícula, sendo o de maior densidade a EV05 (0,47 g/mL) e o de menor densidade o EV01 (0,22 g/mL)

Tabela 2– Valores obtidos para o teste de densidade da *DVEv* em diferentes malhas do tamis

	Malha 710	Malha 355	Malha 180	Malha 150	Malha 75	Malha 38
P1	0,33	0,5	0,41	0,38	0,30	0,23
P2	0,34	0,47	0,43	0,4	0,31	0,22
P3	0,33	0,47	0,41	0,37	0,32	0,22
Média±dp	0,33± 0,006	0,48± 0,017	0,41± 0,012	0,38± 0,015	0,31± 0,010	0,22± 0,006

Fonte: Elaborada pelo autor

➤ **Determinação do pH:**

Na análise da determinação de pH, de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2019), foi observado um caráter ácido para a *DVEv*, em que todas as partículas demonstraram pH em torno de 6,00. Esses dados indicam a presença de substâncias ácidas no material estudado, sugestivos de derivados de fenóis e ácidos cinâmicos, já relatados para a espécie (RAMOS et al., 2020). Esse caráter ácido pode servir como fator de conservação, evitando a contaminação microbiana. É comum este caráter ácido, como mostrado no estudo realizado para avaliar as características físico-químicas da droga vegetal e do extrato nebulizado obtido das raízes de *Apodanthera congestiflora*, que foi observado um caráter ácido tanto na droga vegetal quanto no extrato aquoso nebulizado, em que ambos apresentavam pH em torno de 6,00 (PEREIRA et a., 2019).

➤ *Determinação do índice de espuma*

Outro parâmetro avaliado foi o índice de espuma para os diferentes tamanhos de *DVEv*, e os resultados foram dispostos na tabela 3. Essa metodologia é empregada às drogas vegetais descritas na Farmacopeia, visto que são materiais utilizados especialmente pela indústria farmacêutica.

Na metodologia farmacopeica, utiliza-se o tubo de maior diluição que apresenta 1 cm de espuma, assumindo-se que aquela concentração da droga permite a obtenção desse resultado (BRASIL, 2010).

Por conceito, o índice de espuma expressa a quantidade de líquido extrator que seria necessário para produzir um extrato aquoso (decoto) com um grama da droga vegetal que exiba anel de espuma com 1 cm de espessura após agitados, nas condições do experimento. (BRASIL, 2010). Na tabela 3 a seguir estão dispostos os valores encontrados para os diferentes tamanhos de partículas de *DVEv*.

Tabela 3 – Resultados de altura de espuma (cm) do teste de índice de espuma dos diferentes tamanhos de partículas da *DVEv*.

Tubos (Dc + Água mL)	EV01 Malha 38	EV02 Malha 75	EV03 150	EV04 Malha 180	EV05 Malha 355	EV06 Malha 710
A (1:9)	0	0	0,2	0,2	0,2	0
B (2:8)	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2
C (3:7)	0,4	0,5	0,5	0,4	0,5	0,4
D (4:6)	0,7	0,7	0,5	0,5	0,5	0,3
E (5:5)	0,4	0,7	0,5	0,5	0,3	0,4
F (6:4)	0,5	0,7	1,1	0,5	0,6	0,5
G (7:3)	0,5	1	1,3	0,7	1,4	0,8
H (8:2)	0,6	0,6	1,2	0,8	0,9	0,9
I (9:1)	0,5	1,4	1,7	0,7	1	1
J (10:0)	1	1,6	2	1,3	1,5	1,3
Média	0,51	0,76	0,94	0,59	0,72	0,58
Desvio Padrão	±0,25	±0,47	±0,61	±0,31	±0,46	±0,38
IE (mL/g⁻¹)	$\frac{1000}{10}$	$\frac{1000}{9}$	$\frac{1000}{6}$	$\frac{1000}{10}$	$\frac{1000}{7}$	$\frac{1000}{9}$
	100,0	111,1	166,6	100,0	142,8	111,1

Fonte: Elaborada pelo autor

Para a espécie ainda, não havia sido descrito um índice de espuma (IE) até o momento. Visto que este é uma determinação farmacopeica para drogas vegetais, foi obtido o seguinte

resultado: o tamanho de partícula que exibiu maior valor de IE com $1,1 \pm 0,61$ foi a Ev03 da diluição (6:4), onde foram dispostos 6mL do chá para 4mL de água.

➤ *Determinação do índice de intumescimento*

O intumescimento também é classificado como teste físico-químico que permite avaliar o índice de intumescência que influencia na preparação dos extratos, pois fornece um indicativo de inchaço do pó quando em contato com o sistema solvente, permitindo predizer o volume extra de solvente que pode ser adicionado durante o processo de extração (MOTA et al., 2014).

Os resultados para avaliação do índice de intumescência estão apresentados na (Tabela 4).

Tabela 4 – Avaliação do índice de intumescência dos diferentes tamanhos de partículas da DVEv

P 25 (mL)	EV01(mL)	EV02(mL)	EV03(mL)	EV04(mL)	EV05(mL)	EV06(mL)
1	3	5	4	3	1	2
2	4	6	4	3	1	1
3	2	4	5	4	2	2
Média	3	5	4,3	3,3	1,3	1,6
Desvio Padrão	1±	1±	0,57±	0,57±	0,57±	0,57±

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os índices de intumescência encontrados em água foram de $4,3 \pm 0,57$ mL e $1,3 \pm 0,57$ mL para o maior e menor tamanho de partícula por grama de amostra, respectivamente. Este resultado indica que no material analisado há pouca presença de mucilagens. Em estudo com as folhas de *Morus alba* realizado por Pereira et al. (2011), foi demonstrado valores considerados elevados para o índice de intumescência de $7,1 \pm 0,8544$ mL, aproximando-se com os valores encontrados no nosso estudo.

De acordo com Mota e colaboradores (2014), as mucilagens possuem atividades com propriedades emolientes, que permitem a produção de xaropes com ação expectorante e também demulcente, são considerados polissacarídeos acídicos.

5.3 Prospecção fitoquímica

Os compostos fitoquímicos, bem como suas quantidades presentes nas plantas podem ser elucidados por diferentes fatores, entre eles a parte da planta trabalhada, época de coleta,

sazonalidade etc. Estes são modelos que podem levar a alterações na composição dos metabólitos secundários presentes na droga vegetal (AYOUNI et al., 2016).

O método semiquantitativo foi garantido por meio da construção da curva analítica e leitura no espectrofotômetro. A tabela 5 apresenta a quantificação de polifenóis, flavonoides e taninos, respectivamente.

Tabela 5 – Quantificação de metabólitos secundários da espécie *E. velutina*

MET. SECUNDÁRIO	[] (µg/mL)	MÉDIA	D.P.	METABÓLITO (%)	METABÓLITO (mg/g)
Polifenóis	500	0,1997	0,007	1,24	12,42x10 ⁻⁶
Flavonoides	1000	0,2844	0,004	0,88	8,86x10 ⁻⁶
Taninos	1000	0,0157	0,005	0,51	5,12x10 ⁻⁶

Fonte: Elaborada pelo autor.

A *E. velutina* é uma planta nativa da Caatinga (BESSA et al., 2017). Os estudos químicos da casca de tronco *E. velutina* permitiram o isolamento de alcaloides, terpenos e vários flavonoides bioativos (LOPES et al., 2011). No estudo de Ramos et al. (2020), foi evidenciada a presença de taninos condensados, flavonoides, derivados cinâmicos, açúcares redutores e alcaloides, no extrato hidroalcolólico da casca da *Erythrina velutina*.

Os compostos de fenóis, incluindo flavonoides e ácidos fenólicos, têm atraído mais atenção dos pesquisadores porque sua ampla gama de efeitos farmacológicos age como poderosos antioxidantes e anti-inflamatório (LEAL et al. 2005). Os polifenóis são reconhecidos como compostos dietéticos derivados de plantas extremamente importantes, devido à produção de diversos efeitos considerados benéficos para os humanos tal como atividades antioxidantes, antibacterianas, antivirais, antialérgicas, anticolite, antiinflamatórias, antiartríticas e anticâncer (SODAGARI et al, 2016).

Os flavonoides são um grupo de substâncias naturais que possuem estruturas fenólicas variáveis e são encontrados em frutas, vegetais, grãos, cascas, raízes, caules, flores, chá e vinho. Esses compostos naturais são bem conhecidos por seus efeitos benéficos à saúde e empenham-se em ser realizados para isolar esse metabólito secundário. Os flavonoides são agora considerados como um componente indispensável em uma variedade de aplicações nutracêuticas, farmacêuticas, medicinais e cosméticas. Isso é atribuído às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimutagênicas e anticancerígenas, entre outras (PANCHE et al., 2016). Um estudo realizado por Monte et al., (2014) avaliou a administração de flavonoides isolados de *Erythrina velutina* e os dados indicam um efeito antioxidante da planta.

Espécies vegetais ricas em compostos tânicos são utilizadas no tratamento de patologias, como, diarreia, processos reumáticos, hemorragias, queimaduras e como antídoto em envenenamentos (CUNHA; ROQUE, 2010; SILVA; PEIXOTO, 2013).

Os resultados fitoquímicos encontrados para *DVEv* corroboram com os estudos encontrados na literatura. De acordo com um estudo de Ramos e colaboradores (2020), realizado com extratos hidroalcoólicos folha e a casca de *E. velutina*, também se observou a presença de taninos, flavonoide, saponinas e terpenos, dentre outros metabólitos bioativos.

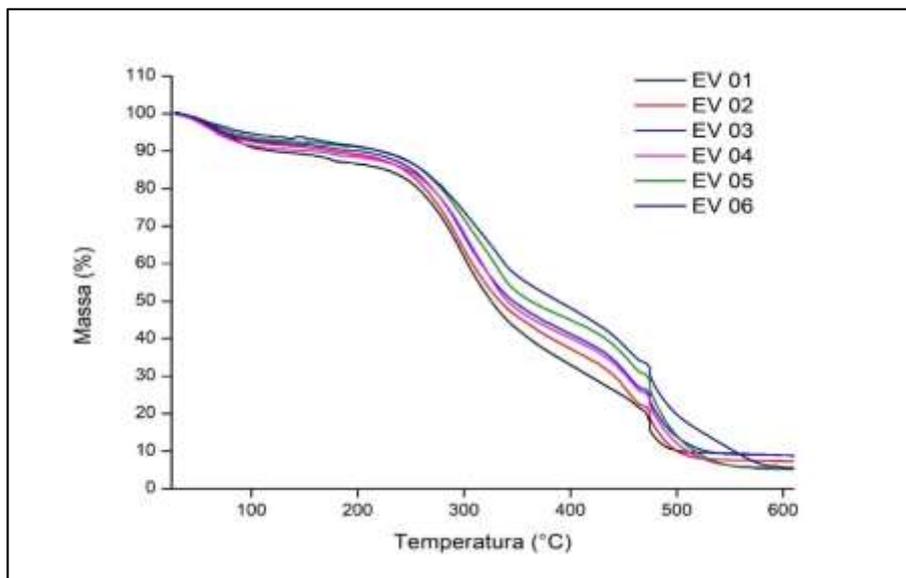
5.4 Análise Térmica

A caracterização térmica da droga vegetal é muito relevante na avaliação da qualidade da matéria-prima. A termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA) são as técnicas termoanalíticas mais comumente utilizadas para caracterizar os extratos secos e drogas vegetais na produção de matéria-prima para análise do perfil de decomposição térmica e parâmetros cinéticos, como segue: ordem de reação (n), energia de ativação (Ea), fator de frequência (A) e degradação constante (CUINICA et al., 2018).

A Análise Térmica é baseada na interpretação dos picos endotérmicos e exotérmicos, que aparecem ao longo das curvas. Esses eventos nos permitem obter informações qualitativas e quantitativas, através do formato e posição de tais picos, por exemplo (FERNANDES et al., 2018).

No estudo de drogas vegetais as análises térmicas vêm ganhando espaço o que possibilita caracterizar o comportamento desse material. A droga vegetal pulverizada obtida a partir da casca de *E. velutina* apresentou decomposição térmica em cinco estágios de perda de massa como mostra a figura 7, onde foi analisada sob atmosfera de nitrogênio e razão de aquecimento de 10 °C/ min⁻¹.

Figura 12 - Curvas TG para as seis partículas com granulometrias diferentes



Fonte: Elaborada pelo autor

De acordo com a padronização das frações granulométrica da droga vegetal, observou-se diferentes parâmetros cinéticos de degradação térmica. A primeira etapa ocorreu na faixa de temperatura 47,84-84,51°C/ 55,56-78,84 °C / 60,75-78,46 °C/ 59,36-79,46°C / 58,4 – 71,11 °C / 66,23-82,97°C, representando uma perda 8,69%, 5,98%, 4,83%, 7,15%,4,81%, 4,17% para EV01, EV02, EV03, EV04, EV05 e EV06 respectivamente. Esta etapa possivelmente está relacionada ao desprendimento de compostos voláteis como óleos essenciais, compostos fenólicos, bem como perda água e de umidade (CORREIA et al., 2013).

A segunda etapa de decomposição ocorreu na temperatura e com perda de massa de 208,33-232,72°C (4,29%) para EV01, 176,57-167,18°C (0,90%) para EV02, 210,51-198,17°C(1,10%) para EV03, 180,50-307,18°C(1,64%) para EV04, 258,25-280,97°C (10,89%) para EV05 e 266,99-332,0°C (35,08%) para EV06 (tabela 7). Nessa etapa, é possível observar que há uma maior perda de massa em relação a maior partícula que seria a EV06. Esta variação pode estar relacionada com o tamanho de partícula (CORREIA *et al.* 2011).

No terceiro evento ocorreu a etapa de degradação, que ocorreu na faixa de 336,11 e 351 °C, com uma perda de massa de 43,90% para EV01, 41,67% para EV02, 42,74% para EV03, 43,90% para EV04, 30,87% para EV05 e 29,10% para EV06, representando o estágio em que houve maior degradação, onde provavelmente ocorre a deterioração de componentes da matriz tecidual da planta com liberação de constituintes, podendo também estar relacionada com mudança de fase física. Este passo de degradação ocorreu perto do intervalo de temperatura do terceiro evento térmico das curvas de DTA (Figura 8).

O quarto evento teve início em 411,10 °C, chegando a uma perda de massa de 12,41%. No quinto e último evento térmico que inicia em 513,47 é possível observar que logo após as etapas de decomposição restam ainda 10,24% de massa, correspondentes às cinzas das amostras. Nestas etapas, os constituintes da amostra que foram carbonizados constituem a matéria inorgânica e os resíduos que não se degradam nessa atmosfera. Os resultados expressos pela análise da TG possibilitam, por exemplo, determinar o teor de umidade e com esses resultados, estabelecer formas de controle dos parâmetros de secagem, evitando o crescimento de microrganismos, reações químicas e até mesmo degradação das amostras (MEDEIROS; MEDEIROS; MACÊDO, 2002).

Na tabela 7 estão dispostos os valores associados aos passos de decomposição termogravimétrica das seis amostras de *E. velutina* resultante de fenômenos físico-químicos, ocorridos após o aquecimento.

Tabela 6 – Dados das temperaturas de decomposição dos diferentes tamanhos de partícula da *E. velutina*

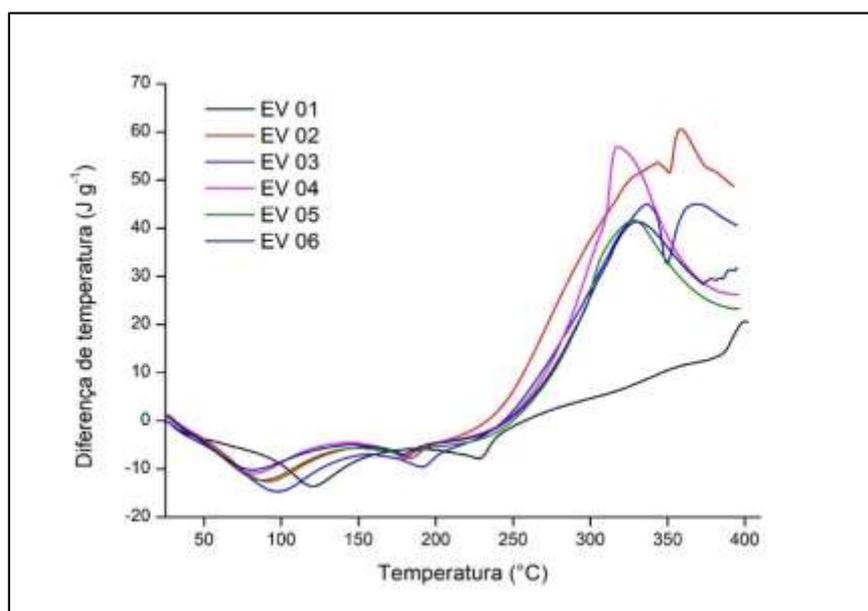
Amostras	T _{onset} /°C	T _{endset} /°C	Perda de massa/%
EV01	47,84	84,51	8,69
	208,33	232,72	4,29
	336,11	338,00	42,38
	411,10	407,00	15,00
	513,47	515,50	15,74
EV02	55,56	78,84	5,98
	176,57	167,18	0,90
	339,73	341,14	41,67
	438,82	483,87	9,51
	519,57	521,77	1,18
EV03	60,75	78,46	4,83
	210,51	198,17	1,10
	336,20	340,01	42,74
	435,02	453,70	9,56
	527,11	531,88	24,78
EV04	59,36	79,46	7,15
	180,50	307,18	1,64
	338,99	349,66	43,90
	443,76	425,72	10,81
	549,22	556,19	29,19
EV05	58,04	71,11	4,81
	258,25	280,97	10,89
	342,15	350,00	30,87
	440,13	428,65	10,79
	547,67	577,45	33,86
EV06	66,23	82,96	4,17
	266,99	332,00	35,08
	345,00	351,00	29,10

	458,30	497,88	12,41
	513,47	603,66	10,24

Fonte: Elaborada pelo autor.

Já as curvas de DTA dos pós nas diferentes granulometrias como disposto na (Figura 8), evidenciam as transições de fases em função da temperatura, decorrente dos eventos térmicos característicos da decomposição da droga vegetal.

Figura 13 - Curvas DTA para as seis partículas com granulometrias diferentes.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os primeiros arranjos endotérmicos evidenciados nas curvas das seis amostras para DTA apresentaram temperaturas de pico entre 95,8 e 120,33 °C. O segundo evento endotérmico foi evidenciado em 183,99 e 227,65°C. Derivado de plantas como droga vegetal, apresentam configuração amorfa com matrizes higroscópicas, portanto, os eventos endotérmicos podem ser atribuídos à evaporação da água. Além disso, são constituídos por metabólitos secundários como alcaloides, flavonoides e taninos, presente na espécie em estudo (CORREIA et al 2013).

Picos exotérmicos foram observados em todas as amostras numa faixa que compreende 330,74 e 362,24°C intervalo de temperatura relacionado a degradação térmica, com valores de entalpia variando de 1,11 a 918 J.g⁻¹. Os materiais vegetais são compostos de matrizes complexas, o que prejudica a qualidade dos picos em DTA observados nas suas imprecisões que pode ser atribuída pelo comportamento de alguns fatores, como: imperfeições das partículas que constituem a droga vegetal, perda de produtos gasosos no aquecimento da amostra e presença de impurezas. Variações de T_{onset} , T_{endset} e entalpia dos três eventos térmicos

observados nas curvas de DTA, são sugestivas de diferenças no comportamento térmico das partículas (Tabela 8). Foi possível observar no pico 2 uma maior perda de energia de acordo com o menor tamanho de partícula. Dessa forma, com uma maior área de superfície de contato, espera-se q uma maior quantidade de energia envolvida no processo de degradação.

Em estudo realizado por Correia et al., (2011) para caracterização do pó das folhas de *E. velutina* utilizando termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA), foi possível observar que as amostras da espécie apresentaram diferenças físicas e químicas de acordo com o tamanho das partículas do pó o que também pode ser observado no presente estudo.

Tabela 7 - Dados da análise térmica diferencial (DTA) dos diferentes tamanhos de partículas

Amostras	Pico 1			Pico 2			Pico 3		
	$T_{\text{pico}}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/\text{J/g}^{-1}$	$T_{\text{inicial e final}}/^{\circ}\text{C}$	$T_{\text{pico}}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/\text{J/g}^{-1}$	$T_{\text{inicial e final}}/^{\circ}\text{C}$	$T_{\text{pico}}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/\text{J/g}^{-1}$	$T_{\text{inicial e final}}/^{\circ}\text{C}$
EV 01	120,33	-330,73	106,37-135,84	227,65	-179,07	221,29-237,95	*	*	*
EV 02	95,9	-268,27	81,49-120,88	189,28	-144,38	181,46-199,50	362,24	-137,22	355,90-364,35
EV 03	102,21	-283,55	77,71-111,63	195,6	-85,63	188,60-205,45	359,57	-508,6	352,95-365,99
EV 04	87,08	-199,98	73,24-102,33	185,18	-79,09	179,44-190,34	330,74	1,98	321,58-351,33
EV 05	93,42	-218,11	86,19- 110,96	185,32	-36,57	179,77-191,74	338,83	1,11	317,19-352,08
EV 06	85,8	-138,44	74,16-98,76	183,99	-37,15	181,22-191,56	340,92	918,87	322,28-359,79

Fonte: Elaborada pelo autor.

5.5 Citotoxicidade em Eritrócitos

O teste clássico de hemólise é baseado na medição de hemoglobina livre como um meio de quantificar indiretamente a taxa de lise celular sem a determinação do número de células. Entretanto, é conhecido que a hemoglobina é oxidada na presença de oxigênio e a oxidação da hemoglobina resulta em desnaturação e precipitação (KIHM et al., 2002; WOOLLARD et al., 2009; XIANG et al., 2013). A avaliação do percentual hemolítico é comumente utilizada para a avaliação do potencial citotóxico dos produtos naturais ou sintéticos, que pode ser mensurado se houver lesão na membrana plasmática das células, seja pela formação de poros ou por ruptura total (KALAIIVANI et al., 2011).

Na concentração 2,5 mg/mL a *DVEv* demonstrou maior porcentagem (26,85%) e na menor concentração 1,25 mg/mL apresentou menor porcentagem (2,93%), para a tipagem sanguínea B e O, respectivamente. Estes dados são demonstrados na tabela 6.

Segundo o estudo de Nofiani et al. (2011), a atividade hemolítica é considerada alta quando os percentuais hemolíticos atingem valores superiores a 40% e baixa quando estes valores são inferiores a 10%, assim a *DVEv* apresentou atividade moderada e baixa, respectivamente.

Tabela 8 - Potencial hemolisante da *DVEv* preparado com a partícula EV01 em diferentes tipos sanguíneos (A, B e O).

CONCENTRAÇÃO (mg/mL)	% de hemólise tipo A	% de hemólise tipo B	% de hemólise tipo O
1,25	7,95	7,45	2,93
2,5	22,17	26,85	10,28
5,0	18,10	19,36	20,89

Fonte: Elaborada pelo autor.

Ramos et al (2020) realizou um estudo comparativo de citotoxicidade dos extratos hidralcólicos da folha e da casca de *E. velutina*, sendo a propriedade citotóxica ensaiada através do perfil hemolítico (com a concentração de 1000 µg/mL) com sangue de carneiro e a letalidade frente à *Artemia salina* L. No estudo, a citotoxicidade e atividade hemolítica se mostrou moderada para a casca (29,31%) e alta (74,43 %) para a folha no estudo de hemólise e tóxicas, frente a *Artemia salina* L.. Dessa forma, os autores ressaltam a importância de mais estudos *in vivo*, visando caracterizar o potencial tóxico. Esses dados subsidiaram a pesquisa tratada trazendo melhor compreensão dos resultados encontrados.

A citotoxicidade de plantas medicinais deve ser apontada como um problema de saúde pública, visto que efeitos adversos, intoxicação e interações com outras drogas comumente acontecem (VEIGA JUNIOR et al., 2005). Segundo Volpato (2005), vários compostos isolados de plantas consideradas medicinais possuem atividade citotóxica, como por exemplo as saponinas e os terpenos, que são reconhecidas na literatura pelas suas atividades tensoativas por apresentarem capacidade de interagir com os elementos da membrana, nesse caso dos eritrócitos, causando deformações na membrana, e conseqüentemente, extravasamento do conteúdo intracelular (SIMÕES et al., 2016), ambos presentes no *DVEv* fato este que pode justificar o percentual hemolítico superior encontrado na espécie em estudo.

Na literatura, é sabido que os compostos fenólicos apresentam atividades adstringentes e nocivas à membrana contra células bacterianas e de mamíferos. A ação adstringente pode ocasionar hemólise (SINGH; KAUR, 2008). Muitos compostos fenólicos apresentam atividade antioxidante estabelecida, além disso podem apresentar atividade antibacteriana significativa. Como muitos extratos vegetais são ricos em compostos fenólicos, o que é de interesse particular para o desenvolvimento de alternativas naturais aos conservantes sintéticos em alimentos (BOUARAB-CHIBANE et al., 2019) e aplicações cosméticas (GLAVAC; LUNDER, 2018).

A hemólise é característica das saponinas, causando a lise por meio de interação irreversivelmente com o colesterol da membrana (PODOLAK et al., 2010; CHO et al., 2011).

5.6 Prospecção da atividade biológica do chá *E. velutina*

5.6.1 Toxicidade aguda

Além da toxicidade, vale salientar as possíveis reações adversas, devido à interação com medicamentos e até mesmo alimentos (BALBINO et al., 2010). Sendo assim, ensaios envolvendo citotoxicidade e toxicidade aguda são etapas básicas importantes para garantir a segurança na utilização dessas plantas (ANTUNES, 2017).

Na toxicidade aguda, a dose de 2000 mg kg⁻¹ não provocou morte e a triagem farmacológica apenas evidenciou diminuição responsiva ao estímulo doloroso na cauda do animal. Passada 24 horas não foi detectado nenhuma alteração.

O monitoramento do ganho de peso e consumo de alimentos e água em estudos com animais é de suma importância, visto que alterações nesses fatores podem ser um medidor do estado de saúde geral do animal. Modificações dos valores nesses parâmetros são indicadores de efeitos adversos de um produto teste (RAZA et al. 2002).

O consumo de ração dos camundongos tratados com o chá não sofreu alterações significativas quando comparado com o grupo controle. Com relação ao consumo de água e evolução ponderal, o grupo que recebeu o chá apresentou um consumo de água significativamente maior quando comparado ao grupo controle. No entanto, esse dado por si só não indica toxicidade.

É possível, por meio do teste de toxicidade aguda, avaliar alterações macroscópicas nos órgãos, como alterações morfológicas e de coloração. Dessa forma é possível coletar informações preliminares sobre o modo de ação tóxica e possíveis alvos da substância teste. Os órgãos avaliados nesse teste foram o coração, fígado, rins, baço e estômago. Nenhum órgão apresentou alterações macroscópicas morfológicas ou de coloração (Tabela 9). Nenhum animal veio a óbito e nenhum sinal de toxicidade foi detectado nas observações comportamentais ou nas necropsias, indicando uma razoável atoxicidade ao chá.

Tabela 9 – Resultados de toxicidade aguda de *E. velutina*

	FÊMEAS		MACHOS	
	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento
Coração (g)	0,429 ± 0,02	0,415 ± 0,02 ^{ns}	0,431 ± 0,07	0,439 ± 0,04 ^{ns}
Fígado (g)	4,336 ± 1,28	4,266 ± 1,68 ^{ns}	5,764 ± 0,48	5,447 ± 0,62 ^{ns}
Rins (g)	0,789 ± 0,05	0,787 ± 0,08 ^{ns}	0,775 ± 0,16	0,788 ± 0,09 ^{ns}
Baço (g)	0,458 ± 0,05	0,474 ± 0,08 ^{ns}	0,407 ± 0,05	0,418 ± 0,07 ^{ns}
Estômago (g)	1,120 ± 0,13	1,075 ± 0,05 ^{ns}	0,867 ± 0,05	0,903 ± 0,07 ^{ns}
Consumo água (mL)	39,29 ± 4,68	32,86 ± 3,03 ^{***}	28,43 ± 5,12	28,93 ± 5,47 ^{ns}
Consumo ração (g)	22,71 ± 4,59	20,86 ± 2,68 ^{ns}	25,29 ± 1,97	27,79 ± 6,71 ^{ns}
Ganho de peso (g)	0,600 ± ,548	0,200 ± 0,83 ^{ns}	1,000 ± 0,70	0,400 ± 1,14 ^{ns}

Fonte: Elaborada pelo autor

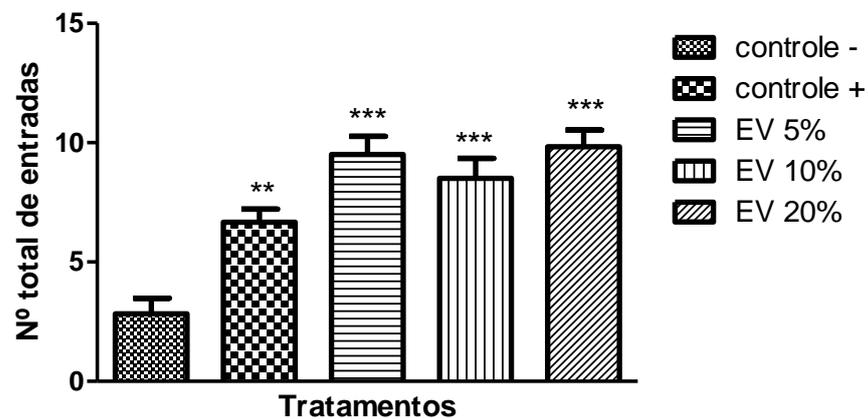
Um estudo de toxicidade realizado com o extrato aquoso das folhas de *E. velutina* indica que, quando administrado agudamente, é atóxico por via oral em ratos. Não foi realizado exames histopatológicos, uma vez que não foram observadas alterações nas necropsias (CRAVEIRO et al, 2008).

Alguns estudos foram realizados envolvendo ensaios de toxicidade da *E. velutina*, demonstrando 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.

5.6.2 Atividade ansiolítica

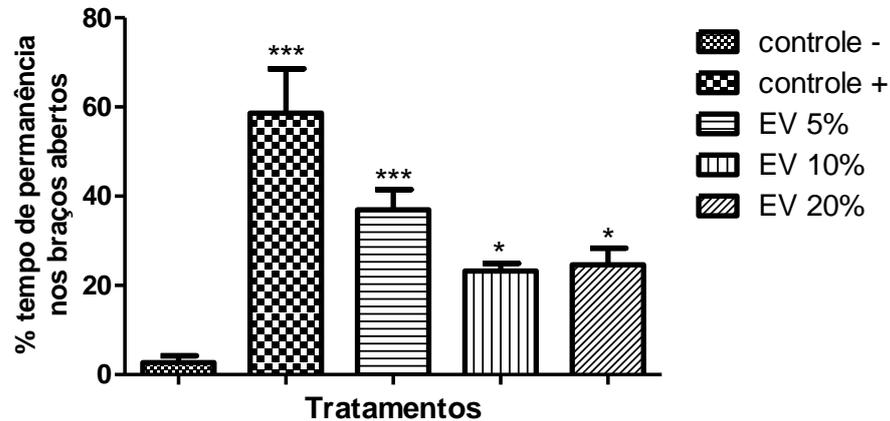
Na Figura 14 é possível observar que no labirinto em cruz elevado, o chá de *DVEv* causou um aumento no número de entradas de braços abertos e na porcentagem de tempo gastes braços, de maneira superior em todas as concentrações de tratamentos avaliados (5%, 10% e 20%), produzindo efeitos ansiolíticos consideráveis. O grupo que recebeu o chá à 5%, entre as três concentrações testadas, apresentou uma maior porcentagem de permanência nos braços abertos (Figura 15).

Figura 14 – Efeito da administração oral do chá de *DVEv* (5, 10, 20%) em camundongos *Swiss* pelo número de entradas nos braços abertos.



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 15 – Efeito da administração oral do chá de *DVEv* (5, 10, 20%) em camundongos *Swiss* na porcentagem 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 Onusic et al. (2002) também encontrou resultados semelhantes com *E. mulungu*. (nativa do sul do Brasil). O extrato hidroalcoólico das inflorescências desta planta foi capaz de reduzir as respostas relacionadas à ansiedade no teste em cruz elevado e no modelo de transição claro /escuro. Um outro estudo avaliou os efeitos ansiolíticos do extrato alcoólico das folhas de *E. velutina*. Os resultados do teste em cruz elevada mostraram que, na dose de 20 mg/kg, o extrato aumentou a porcentagem de entradas nos braços abertos e também tendeu a aumentar a porcentagem de tempo gastos nesses. Esses dados sugerem uma ação ansiolítica aguda do extrato alcoólico de *E. velutina* (TEIXEIRA-SILVA et al., 2008).

Vasconcelos et al., (2004) estudaram os efeitos comportamentais centrais dos extratos hidroalcoólicos da casca do caule de *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu* no teste campo aberto em camundongos. Doses únicas dos extratos foram administradas por via oral (200, 400 ou 800 mg kg⁻¹ ou intraperitoneal (200 ou 400 mg kg⁻¹) em camundongos fêmeas. Diminuições no número de entradas nos braços aberto e fechado do labirinto em cruz elevado foram observadas após a administração da maior dose (800 mg kg⁻¹), de ambos os extratos hidroalcoólicos, e este efeito pode ser devido à diminuição da atividade locomotora de ambos os extratos hidroalcoólicos.

Foram avaliados os efeitos do tratamento oral agudo e crônico do extrato hidroalcoólico de *E. velutina* (agudo = 100, 200, 400 mg / kg; crônico = 50, 100, 200 mg / kg) em camundongos submetidos ao modelo de labirinto em T elevado (para medidas de evitação e fuga) de ansiedade. Ambos os regimes de tratamento com o extrato hidroalcoólico de *E. velutina*

prejudicou as latências de evasão do labirinto em T elevado, sem alterar o escape, de uma forma semelhante ao diazepam. Dessa forma, os autores concluíram que o tratamento oral agudo e crônico com *E. velutina* exerce efeitos do tipo ansiolítico em um subconjunto específico de comportamentos defensivos que foram associados ao transtorno de ansiedade generalizada (RIBEIRO et al., 2006).

Um outro estudo avaliou o efeito da administração aguda e crônica (23-26 dias) do extrato hidroalcolólico da casca do caule de *Erythrina velutina* (por via oral) em camundongos submetidos a alguns testes, incluindo o labirinto em cruz elevado. Foi observado que a administração crônica, mas não aguda, do extrato hidroalcolólico de *E. velutina* (100 mg / kg) aumentou a porcentagem de entradas de braço aberto, um efeito também observado em tratamentos agudos e crônicos com clordiazepóxido (7,5 mg / kg). Dessa forma, os autores sugerem que a administração crônica do extrato hidroalcolólico da casca do caule de *E. velutina* exerce um efeito ansiolítico em camundongos e pode servir como uma abordagem para o tratamento de ansiedade, embora em doses baixas possa ter um efeito amnésico (RAUPP et al., 2008).

Usando o modelo TLCE neste trabalho, demonstramos efeitos ansiolíticos agudos do chá das cascas de *E. velutina* nas concentrações de 5%, 10% e 20% (g/v). 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).

Alguns autores propuseram que a sensibilidade, confiabilidade e validade etológica de um teste melhorariam se a atenção do pesquisador fosse voltada para o que os animais fazem de fato no labirinto e não apenas para os itens primários (RODGERS et al., 1992).

No TLCE para camundongos, mergulho 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).

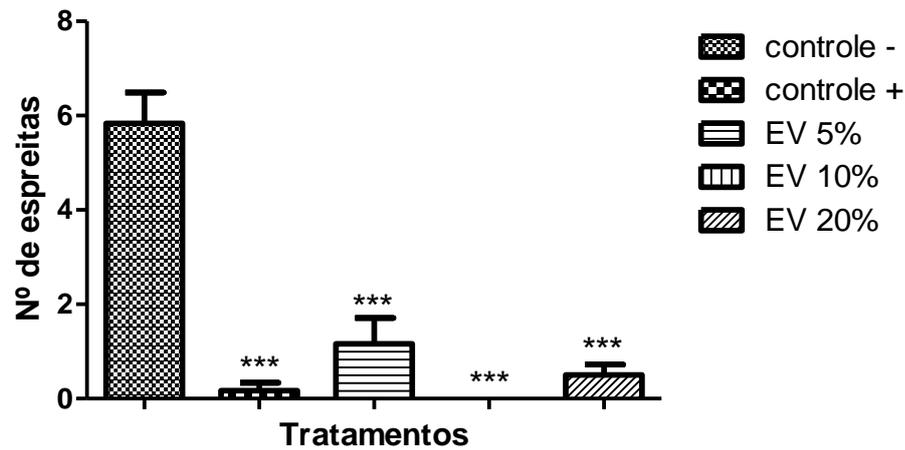
Nestas figuras (Figura 16, 17, e 18), são analisados os fatores etológicos, que são comportamentos que representam a avaliação de risco em que o camundongo antecipa um perigo potencial. São eles:

- *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;
- *Grooming* (autolimpeza) - limpeza de qualquer parte da superfície do corpo com a língua, dentes e / ou patas dianteiras.
- *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).
- *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);

Assim, 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 foi executado com maior regularidade pelo controle negativo, tendo os outros grupos, inclusive os tratados com o chá e a droga padrão, realizado também esse comportamento de forma semelhante.

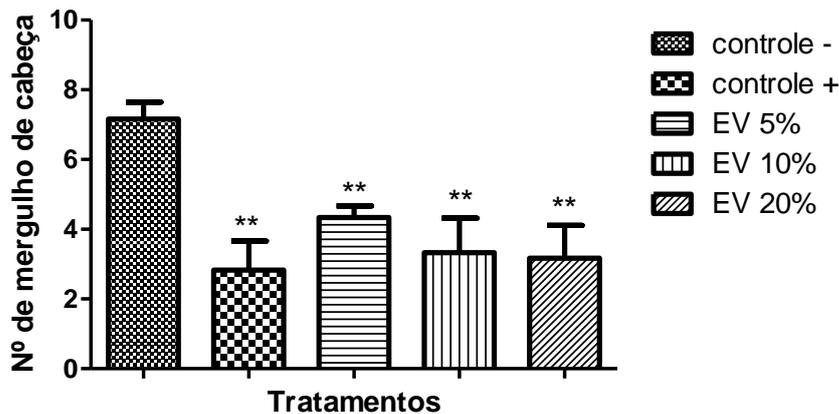
Os outros dois parâmetros medidos pela análise etológica foram *rearing e grooming*. O comportamento de *grooming* foi avaliado pela periodicidade em que o animal realiza esse comportamento de autolimpeza. Alguns estudos relatam não haver correlação entre o comportamento de *grooming* e a ansiedade. Existem indícios de que os benzodiazepínicos (como o Diazepam) provoquem redução deste comportamento, por reduzirem a resposta aos estímulos ansiogênicos (SPRUIJT et al., 1992). O controle negativo quando comparado ao controle positivo, apresentou um aumento no número de *grooming* de maneira superior.

Figura 16 – Efeito da administração oral do chá de *DVEv* (5, 10, 20%) em camundongos *Swiss* no número de espreitas



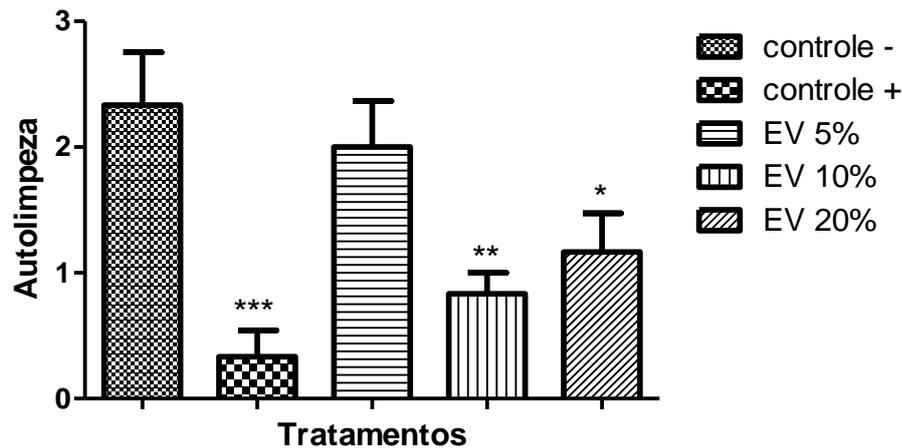
Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), *** $p < 0,001$.

Figura 17 – Efeito da administração oral do chá de *DVEv* (5, 10, 20%) em camundongos *Swiss* no número de mergulho 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 %), ** $p < 0,01$.

Figura 18 – Efeito da administração oral do chá de *DVEv* (5, 10, 20%) em camundongos *Swiss* no número de autolimpeza.

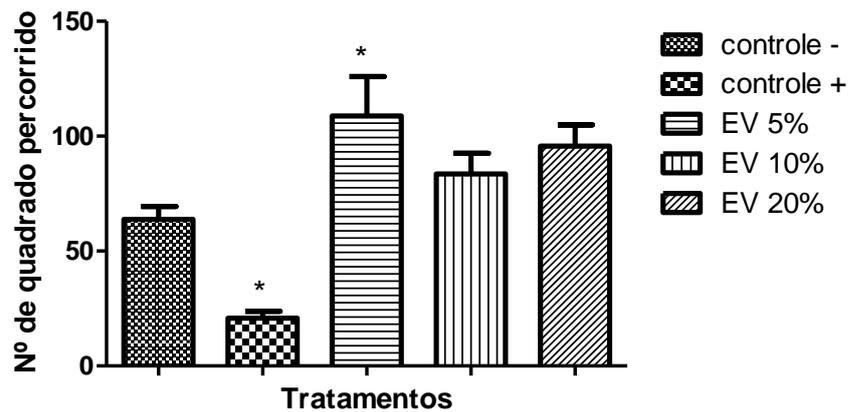


Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

5.6.2.2 Teste de Campo aberto

O tratamento com o chá de *E. velutina* não demonstrou atividade ansiolítica neste parâmetro, pois foi observado que ocorreu um aumento de ambulação nos grupos tratados com solução salina e com o chá (Figura 19). Houve aumento na atividade de locomoção nos grupos tratados com o chá em todas concentrações, pois o número de quadrados cruzados no perímetro aumentou entre os grupos tratados com o chá e diferiu significativamente do grupo de controle positivo. A frequência de *rearing* também aumentou significativamente após a administração do chá de *E. velutina* em comparação com o grupo tratado com o Diazepam (Figura 20). Foi possível observar o aumento de *grooming* dos grupos tratados de forma semelhante ao controle positivo, tendo o controle negativo apresentado um comportamento de autolimpeza superior a todos os outros grupos (Figura 21).

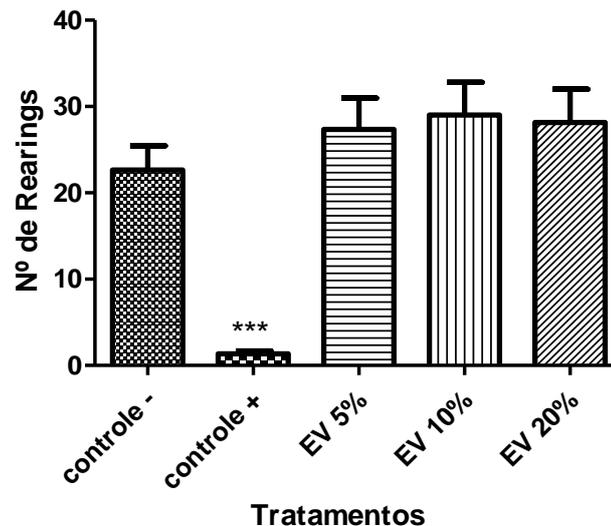
Figura 19 – Efeito da administração oral do chá de *DVEv* (5, 10, 20%) em camundongos *Swiss* no número de quadrado percorrido



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

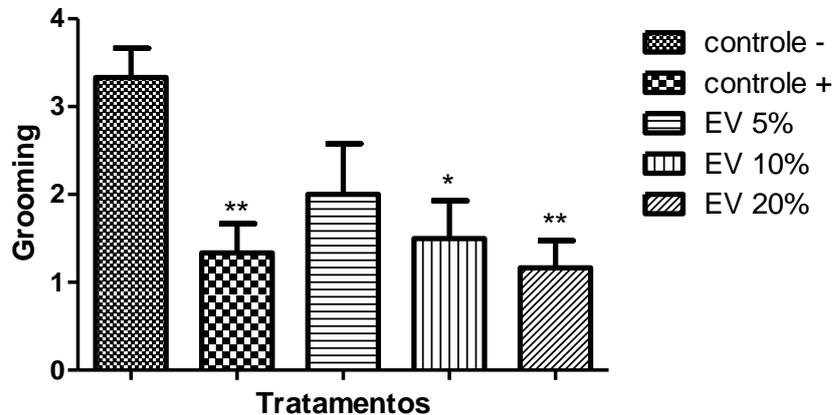
O teste da movimentação espontânea também permite investigar a ação excitatória ou a depressora de uma droga sobre o sistema nervoso central, uma vez que as excitatórias aumentam a ambulação no animal durante o teste e as depressoras a diminuem (PIMENTA, 2014).

Figura 20 – Efeito da administração oral do chá de *DVEv* (5, 10, 20%) em camundongos *Swiss* no número de *Rearings*



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

Figura 21 – Efeito da administração oral do chá de *DVEv* (5, 10, 20%) em camundongos *Swiss* no número de *Grooming*



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 %), * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Um estudo realizado por Dantas et al (2004) com o extrato hidroalcoólico das folhas de *E. velutina* mostrou que em campo aberto, o extrato nas doses de 10 e 50 mg / kg não alterou o número de cruzamentos, levantamento ou autolimpeza. Por outro lado, na dose de 200 mg / kg reduziu o número de cruzamentos e autolimpeza. Quando expostos durante três dias consecutivos ao campo aberto, os animais controle apresentaram habituação para cruzamentos e levantamento. O mesmo não ocorreu para os animais tratados com 10 mg / kg do extrato. Dessa forma, os autores concluíram que em pequenas doses o extrato interfere no processo mnemônico para diferentes tarefas, enquanto em doses mais altas, as ações sedativas e bloqueadoras neuromusculares são os principais efeitos. Com isso, o extrato hidroalcoólico das folhas de *E. velutina* causa efeitos periféricos e centrais que são dependentes da dose administrada.

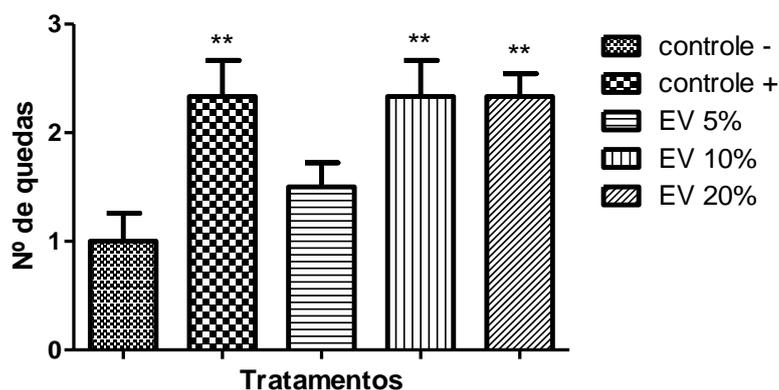
Vasconcelos et al., (2004) estudaram os efeitos comportamentais centrais dos extratos hidroalcoólicos da casca do caule de *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu* no teste campo aberto em camundongos. Doses únicas dos extratos foram administradas por via oral (200, 400 ou 800 mg kg^{-1} ou intraperitoneal 200 ou 400 mg kg^{-1} em camundongos fêmeas. Uma redução da atividade locomotora foi observada no teste de campo aberto com ambos os extratos hidroalcoólicos após o tratamento intraperitoneal com todas as doses, mas apenas com a maior dose após a administração oral. Além disso, a administração oral e intraperitoneal dos extratos diminuiu a incidência de levantamento e autolimpeza. Dessa forma, no teste de campo aberto, o chá aumentou significativamente o número de quadrados cruzados e o número de *rearing*,

todos eles são demonstrações características de comportamento exploratório, inerente aos efeitos de drogas que apresentam ação excitatória sobre o sistema nervoso central, uma vez que as excitatórias aumentam a ambulação no animal durante o teste (PIMENTA, 2014).

5.6.2.3 Teste de Rota rod

Com a finalidade de excluir a possibilidade de que um eventual efeito nos modelos descritos anteriormente seja devido a uma alteração na atividade locomotora, os camundongos foram submetidos a outro procedimento denominado Rota-Rod. Verificou-se alterações motoras e/ou sedativas avaliadas no ensaio rota rod (Figura 23). Com base nesses resultados, pode-se presumir que os chás, em todas as concentrações, apresentaram atividade depressora no sistema nervoso central, nas condições testadas e alteram a adaptabilidade à atividade motora, indicando que os tratamentos testados apresentam propriedades miorelaxantes. O diazepam também apresentou um maior número de quedas, de forma semelhante aos grupos tratados.

Figura 22 – Efeito da administração oral do chá de DVEv (5, 10, 20%) em camundongos *Swiss* no número de quedas.



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.

Vasconcelos et al., (2004) estudaram os efeitos comportamentais centrais dos extratos hidroalcoólicos da casca do caule de *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu* no teste de rota rod. Não foi observada alteração no teste do *rota rod* após o tratamento com os extratos de *E. velutina* e *E. mulungu* nas doses (200, 400 ou 800 mg kg⁻¹) e vias utilizadas (intraperitoneal e oral), demonstrando que os tratamentos não afetaram a coordenação motora no teste do rota

rod.. No entanto, os tratamentos alteraram a adaptabilidade à atividade motora, indicando que o chá testado apresenta propriedades miorrelaxantes.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os estudos permitiram a caracterização parcial da droga vegetal, bem como controle de qualidade. Uma vez que os testes de densidade aparente, determinação do pH, determinação do índice de espuma, índice de intumescência possibilitaram informações sobre a espécie pela primeira vez, contribuindo para padronização e reprodutibilidade.
- Os estudos permitiram a caracterização parcial da droga vegetal como um pó grosso, de caráter ácido e com pouca mucilagem, contendo polifenóis, flavonoides e taninos;
- Com os ensaios térmicos, na análise de TG foi possível observar a decomposição térmica em cinco estágios de perda de massa, atribuídos possivelmente ao desprendimento de compostos voláteis como óleos essenciais, compostos fenólicos, bem como perda água e de umidade. Nas curvas de DTA dos pós nas diferentes granulometrias evidenciaram as transições de fases em função da temperatura, decorrente dos eventos térmicos característicos da decomposição da droga vegetal.
- Na análise fitoquímica foi possível quantificar as concentrações de polifenóis, flavonoides e taninos presentes na *DVEv* de acordo com o marcador para cada metabólito.
- Em eritrócitos a *DVEv* mostrou-se atividade moderada para a tipagem sanguínea B e baixa atividade para a tipagem O;
- No TLCE, o chá da *DVEv* mostrou efeito ansiolítico;
- Quando avaliada a toxicidade aguda oral, não foi observado nenhum sinal de intoxicação nem comportamental nem nas necropsias, indicando possivelmente uma razoável atoxicidade ao chá das cascas de *E. velutina*, no entanto, não descarta a possibilidade que novos testes possam ser realizados.
- No TLCE o chá de *DVEv* resultou em um aumento no número de entradas de braços abertos e na porcentagem de tempo gasto nesses braços, de forma superior em todas as concentrações de tratamentos avaliados, produzindo efeitos ansiolíticos consideráveis.
- Em relação aos fatores etológicos, os grupos que receberam o tratamento demonstraram redução nesses dados quando comparados ao controle negativo.
- No teste de campo aberto o tratamento com o chá de *E. velutina* não demonstrou atividade ansiolítica, pois foi observado que ocorreu um aumento no número de ambulação, *grooming* e *rearing* nos grupos tratados com o chá em todas as concentrações e no controle negativo.

- Para avaliação do teste de *rota rod* pode-se presumir que o chá, em todas as concentrações, apresentou atividade depressora no SNC, nas condições testadas e alteram a adaptabilidade à atividade motora, indicando que os tratamentos testados apresentam propriedades miorrelaxantes.
- O chá da *DVEv* mostrou-se seguro, atóxico e com promissora atividade ansiolítica, corroborando com o seu uso popular e sendo uma alternativa acessível e eficaz para o tratamento da patologia em questão.
- De forma geral, o objetivo principal do trabalho fora alcançado, o que não descarta a continuidade dos estudos.

REFERÊNCIAS

- ATANASOV, A. G.; WALTENBERGER, B.; PFERSCHY-WENZIG, E. V.; LINDER, T.; WAWROSCHE, C.; UHRIN, P.; TEMML, V.; WANG, L.; SCHWAIGER, S.; HEISS, E. H.; ROLLINGER, J. M.; SCHUSTER, D.; BREUSS, J. M.; BOCHKOV, V.; MIHOVILOVIC, M. D.; KOPP, B.; BAUER, R.; DIRSCH, V. M.; STUPPNER, H. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. **Biotechnology Advances**, Chicago, v. 33, n. 8, p.1582–1614, 2015.
- AYOUNI, K.; BERBOUCHA-RAHMANI, M.; KIM, H. K.; ATMANI, D.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H. Metabolomic tool to identify antioxidant compounds of *Fraxinus angustifolia* leaf and stem bark extracts. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 88, p. 65–77, 2016.
- ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2006. 384 p.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia brasileira**. 5. ed. Brasília, DF: ANVISA: Fundação Oswaldo Cruz, 2010. 546 p. v.1.
- ALVES, F.M; LEHN, C.R; DAMASCENO-JÚNIOR, G.A; SARTORI, A.L.B; POTT, A.; POTT, V.J; BORTOLOTTI, I.M; ISHII, I.H; SALIS, S.M; URBANETZ, C.; BUENO, M.L; SCIAMARELLI, A. **Coleções Botânicas do estado de Mato Grosso do Sul: situação atual e perspectivas**. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Museu de Ciências Naturais, Porto Alegre, v. 73, 2018.
- AMER M. E.; SHAMMA M.; FREYER A. J. The tetracyclic *Erythrina* alkaloids. **Journal of Natural Products**, Columbus, v. 54, n. 2, p. 329–363, Mar. 1991.
- AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5**. 5th. ed. Washington: American Psychiatric Association, Washington, 2013.
- ARITA, T.; MIYAZAKI, S.; TERAMOTO, S.; YOSHITAMA, K. Major anthocyanin biosynthesis in the brilliant crimson petals from *Erythrina crista-galli* L. **Scientia Horticulturae**, New York, v. 168, p. 272–280, Mar. 2014.
- CORREIA, P. L.; PROCÓPIO, J. V. V.; SANTANA, C. P.; SANTOS, A. F. O.; CAVALCANTE, H. M. M.; MACÊDO, R. O. Characterization of herbal medicine with different particle sizes using pyrolysis GC/MS, SEM and thermal techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Dordrecht, v. 111, n. 3, p. 1691–1698, 2013.
- MEDEIROS, A. C. D.; CORREIA, L. P. C.; SIMÕES, M. O. S. S.; MACÊDO, R. O. Technological Quality Determination of Pharmaceutical Disintegrant by DSC Photovisual., **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Dordrecht v. 88, n. 2, p. 311–315, 2017.
- MEDEIROS, S A, C, D; MEDEIROS, I, A.; MACÊDO, R, O, Thermal studies of *Albizia inopinata* crude extract in the presence of cyclodextrin and Aerosil by TG and DSC coupled to the photovisual system, **Thermochemica Acta**, Amsterdam v, 392-393, p, 93–8, 2002.
- BARROS, A. L. B. L.; HUMEREZ, D. C.; FAKIH, F. T.; MICHEL, J. L. M. Situações geradoras de ansiedade e estratégias para seu controle entre enfermeiras: estudo preliminar. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**. São Paulo, v. 11, n. 5, p. 585–592, set./out. 2003.
- CARVALHO P. E. R. **Mulungu (*Erythrin velutina*)**. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. 8 p. (Circular Técnica-CT 160)

- 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**, New York, v. 122, n. 2, p. 374–378, Mar. 2009.
- CLAUDINO, J.; CORDEIRO, R. Níveis de ansiedade e depressão nos alunos do curso de licenciatura em enfermagem: o caso particular dos alunos da Escola Superior de Saúde de Portalegre. **Millenium-Journal of Education, Technologies and Health**, Portugal, v. 32, n. 11, p. 197–210, Fev. 2016.
- DANTAS, M. C.; OLIVEIRA, F. S.; BANDEIRA, S. M.; BATISTA, J. S.; SILVA JR. C. D.; ALVES, P. B.; ANTONIOLLI, A. R.; MARCHIORO, M. Central nervous system effects of the crude extract of *Erythrina velutina* on rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, New York, v. 94, n. 1, p.129–133, Sep. 2004.
- DUIITS, P.; CATH, D. C.; LISSEK, S.; HOX, J. J.; HAMM, A. O.; ENGELHARD, I. M.; VAN DEN HOUT, M. A.; BAAS, J. M. P. Updated meta-analysis of classical fear conditioning in the anxiety disorders. **Depress and Anxiety**, New York, v. 32, n. 4, p. 239–253, Feb. 2015.
- DUNSMOOR, J. E.; PAZ, R. Fear generalization and anxiety: behavioral and neural mechanisms. **Biological Psychiatry**, New York, v. 78, n. 5, p. 336–343, Apr. 2015.
- ETKIN, A.; WAGNER, T.D. Functional neuroimaging of anxiety: a meta-analysis of emotional processing in PTSD, social anxiety disorder, and specific phobia. **American Journal of Psychiatry**, Washington, v. 164, n. 10, p. 1476–1488, Oct. 2007.
- FONZO, G. A.; RAMSAWH H. J.; FLAGAN, T. M.; SULLIVAN, S. G.; LETAMENDI, A.; SIMMONS, A. N.; PAULUS, M. P.; STEIN, M. B. Common and disorder-specific neural responses to emotional faces in generalised anxiety, social anxiety and panic disorder. **The British Journal of Psychiatry**, London, v. 206, n. 3, p. 206–215, Mar. 2015.
- GARCÍA-RÍOS, R. I.; MORA-PÉREZ, A.; GONZÁLEZ-TORRES, D.; CARPIO-REYES, R. J.; SORIA-FREGOZO, C. S. Anxiolytic-like effect of the aqueous extract of *Justicia spicigera* leaves on female rats: a comparison to diazepam. *Phytomedicine*, Stuttgart, v. 55, p. 9–13, mar. 2019.
- GARÍN-AGUILAR, M. E.; LUNA, J. E. R.; SOTO-HERNÁNDEZ, M.; DEL-TORO, G. V.; VÁZQUEZ, M. M.; J. Effect of crude extracts of *Erythrina americana* Mill. on aggressive behavior in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, New York, v. 69, n. 2, p. 189–196, Feb. 2000.
- GLENDHILL, D. **Os nomes das plantas**. 4. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2008. 157 p.
- GRAEFF, F. G. Ansiedade, pânico e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v. 29, p. 3–6, Maio 2007.
- HEGNAUER, R.; RENPE, J.; GPAYER-BARKMEIJER, R. J. Relevance of seed polysaccharides and flavonoids for the classification of the leguminosae: a chemotaxonomic approach. **Phytochemistry**, New York, v. 34, n. 1, p. 3–16, Aug. 1993.
- JUMA, B. F.; MAJINDA, R. R. T. Erythraline alkaloids from the flowers and pods of *Erythrina lysistemon* and their DPPH radical scavenging properties. **Phytochemistry**, New York, v. 65, ed. 10, p. 1397–1404, May. 2004.
- KILGORE, M. B.; AUGUSTIN, M. M.; STARKS, C. M.; O'NEIL- JOHNSON, M.; MAY, G. D.; CROW, J. A.; KUTCHAN, T. M. Cloning and characterizing of a norbelladine 4'-O-methyltransferase involved in the biosynthesis of the Alzheimer's drug galanthamine in *Narcissus* sp. aff. *pseudonarcissus*. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 7, July 2014.

- KIM, J.; GORMAN, J. The psychobiology of anxiety. **Clinical Neuroscience Research**, Kidlington v. 4, n. 5, p. 335–347, May 2005.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1992.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002.
- MARTINS, M.V. *Erythrina*. In: **Flora do Brasil 2020 em construção**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico, 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB22965>. Acesso em: 15 Mai. 2021.
- MILAD, M. R.; ROSENBAUM, B. L.; SIMON, N. M. Neuroscience of fear extinction: implications for assessment and treatment of fear-based and anxiety related disorders. **Behaviour Research and Therapy**, New York, v. 62, p. 17–23, Aug. 2014.
- NARDI, A. E.; FONTENELLE, L. F.; CRIPPA, J. A. S. 2012. Novas tendências em transtornos de ansiedade. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v. 34, supl. 1, p. 5–6, jun. 2012.
- ONUSIC, G. M.; NOGUEIRA, R. L.; PEREIRA, M. S.; VIANA, M. B. Effects of acute treatment with a water-alcohol extract from *Erythrina mulungu* on anxiety-related responses in rats. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, São Paulo, v. 35, p. 473–477, Apr. 2002.
- PALUMBO, C. F. G.; GARDIN, N. E.; NAKAMURA, M. U. *Erythrina mulungu* Mart. ex Benth and *Erythrina velutina* Willd.: pharmacological aspects and anthroposophic view of these Brazilian plants. **Arte Médica Ampliada**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 152–161, 2016.
- 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.
- 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, Jan. 2018.
- 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.
- 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, M.D.; ONUSIC G.M.; POLTRONIERI, S. C.; VIANA, M.B. Effect of *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in rats submitted to animal models of anxiety and depression. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 39, n. 2, p. 263–270, 2006.
- SAKI, K.; BAHMANI, M.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. The effect of most important medicinal plants on two important psychiatric disorders (anxiety and depression)-a review. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, Hong Kong v.7, n 1, p. 534–542, Jul./Sep. 2014.
- SOARES, J. A.; TRAUTENMULLER, A. L.; GODOI, M. M.; PAULA, J. A. M.; AMARAL, V. C. S. Avaliação da atividade ansiolítica do extrato seco das folhas de *Momordica charantia* L. em ratas

Wistar. *In*: CONGRESSO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UEG, 3, 2016. Pirenópolis. **Anais** [...]. Pirenópolis: Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG, 2016.

STEIN, M. B.; SIMMONS, A. N.; FEINSTEIN, J. S.; PAULUS, M. P. Increased amygdala and insula activation during emotion processing in anxiety-prone subjects. **American Journal Psychiatry**, London, v. 164, p. 318–327, Feb. 2007.

TANAKA H.; ETOH H.; SHIMIZU H.; OH-OCHI T.; TERADA Y.; TATEISHI Y. Erythrinan alkaloids and isoflavonoids from *Erythrina poeppigiana*. **Planta Medica**, Stuttgart, v.67, n. 9, p. 871–873, Dec. 2001.

VASCONCELOS, S. M. M.; LIMA, N. M.; SALES, G. T. M.; CUNHA, G. M. A.; AGUIAR, L. M. V.; SILVEIRA, E. R.; RODRIGUES, A. C. P.; MACEDO, D. S.; FONTELES, M. M. F.; SOUSA, F. C. F.; VIANA, G. S. B.; Anticonvulsant activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu*. **Journal of Ethnopharmacology**, New York, v. 110, n. 2, p. 271–274, Mar. 2007.

VASCONCELOS, S. M. M.; MACEDO, D. S.; MELO, C. T. V.; MONTEIRO, A. P.; CUNHA, G. M. A.; SOUSA, F. C. F.; VIANA, G. S. B.; RODRIGUES, A. C. P.; SILVEIRA, E. R. Central activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v. 56, n. 3, p. 389–393, Mar. 2004.

VASCONCELOS, S. M. M.; OLIVEIRA, G. R.; MOHANA, M. C.; RODRIGUES, A. C. P.; SILVEIRA, E. R.; FONTELES, M. M. F.; SOUSA, F. C. F.; VIANA, G. S. B. Antinociceptive activities of the hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Japan, v. 26, n. 7, p. 946–949, Jul. 2003.

VIRTUOSO, S.; DAVET, A.; DIAS, J. F. G.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, M. D.; OLIVEIRA, A. B. Preliminary study of the antibacterial activity of *Erythrina velutina* Willd. Fabaceae (Leguminosae) bark. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.15 n. 2, p. 137–143, jun. 2005.

WANJALA C. C. W.; JUMA B. F.; BOJASE G.; GACHE B. A.; MAJINDA R. R. T. Erythraline alkaloids and antimicrobial flavonoids from *Erythrina latissima*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 68, n. 7, p. 640–642, Jul. 2002.

WANJALA C. C. W.; MAJINDA R. R. T. Two novel glucodienoid alkaloids from *Erythrina latissima* seeds. **Journal of Natural Products**, Columbus, v. 63, n. 6, p. 871–873, Apr. 2000.

ZHANG, Z. J. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. **Life Sciences**, Oxford v.75, n. 14, p. Aug.1659–1699, 2004.

KUNLE, O. F.; EGHAREVBA; H. O.; AHMADU P.O. Standardization of herbal medicines-A review. **International Journal of Biodiversity and Conservation**, Nairobi, n. 3, v. 4, p. 101–112, Mar. 2012. DOI: 10.5897/IJBC11.163.

WHO. **World Health Organization General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine**. 2000 Available online: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/66783/WHO%5fEDM%5fTRM%5f2000.1.pdf> (accessed on 12 May 2020).

GURIB-FAKIM A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Mol. Asp. Med.** V. 27, p. 1–97, 2006, 10.1016/j.mam.2005.07.008.

HOUGHTON P.J. The role of plants in traditional medicine and current therapy. **J. Altern. Complementary Med.**, Nova York, v.1, p. 131–143, 1995. 10.1089/acm.1995.1.131

RATES, S. M. Plants as source of drugs. **Toxicon**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 603–613, May. 2001.

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.

MAHWASANE S.; MIDDLETON L.; BOADUO, N. An ethnobotanical survey of indigenous knowledge on medicinal plants used by the traditional healers of the Lwamondo area, Limpopo Province, South Africa. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 88, p. 69–75, 2013. doi: 10.1016/j.sajb.2013.05.004.

KADIR, M. F.; SAYEED, M.S.B.; MIA, M. M. K. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used by traditional healers in Bangladesh for gastrointestinal disorders. **Journal of Ethnopharmacology**, New York, v. 147, p. 148–156, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 971, de 3 de maio de 2006. **Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde**. Diário Oficial da União, n.84, p. 19, seção 1, 2006b.

ZUANAZZI, J.A.S, MAYORGA, P. Fitoprodutos e desenvolvimento econômico. **Revista Química Nova**, São Paulo/SP, v. 33, n.6, p. 1421–1428, 2010.

BRASIL. Presidência da República; Decreto Nº 5.813 de 22 de junho de 2006. **Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicas**, Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 de junho de 2006.

BRASIL. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. **Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicas**, Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, Seção 1, p. 2. 23 jun. 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portal da Saúde: **Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicas**. 2009.

GOŁYSZNY, M. J.; OBUCHOWICZ, E. Medicinal Plant Materials in the Treatment of Anxiety Disorders: Neurobiological Aspects. **Alternative therapies in health and medicine**, New York, v. 24, n. 5, p. 44–57, 2018. Disponível em: <http://search-ebshost-com.ez121.periodicos.capes.gov.br/login.aspx?direct=true&db=mdc&AN=29332026&lang=pt-br&site=ehost-live>. Acesso em: 3 jul. 2020.

DIETZ, B. M.; MAHADY, G. B.; PAULI, G. F.; FARNSWORTH, N. R. Valerian extract and valerenic acid are partial agonists of the 5-HT 5a receptor in vitro. **Molecular Brain Research**, Amsterdam, n. 2, v. 138, p. 191–197, 2005.

LEHMANN, E.; KINZLER, E.; FRIEDEMANN, J. Efficacy of a special kava extract (*Piper methysticum*) in patients with states of anxiety, tension and excitedness of nonmental origin: A double-blind placebo-controlled study of four weeks treatment. *Phytomedicine*, Stuttgart, n. 2, v. 3, p. 113–119, Sep. 1996.

DHAWAN K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Anxiolytic activity of aerial and underground parts of *Passiflora incarnata*. **Fitoterapia**, v. 72, n. 8 p. 922–926, 2001.

ZANOLI, P.; ZAVATTI, M.; Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. **Journal of Ethnopharmacology**, New York, n. 3, v. 116, p. 383–396, Mar. 2008.

TISSOT, O. Prise en charge de l'anxiété par la phytothérapie. **Actualités Pharmaceutiques**, New York, n. 590, v. 58, p. 27–28, Nov. 2019.

LEE, S.; RHEE, D. Effects of ginseng on stress-related depression, anxiety, and the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. **Journal of Ginseng Research**, Seoul, n. 4, v. 41, p.589–594, Oct. 2017.

GOVINDARAGHAVAN, S; SUCHER, N. J. Quality assessment of medicinal herbs and their extracts: Criteria and prerequisites for consistent safety and efficacy of herbal medicines. **Epilepsy & Behavior**, Orlando, v. 52, p. 363-371, Nov. 2015.

FERNANDES, F. H. A.; BOYLAN, F.; SALGADO, H. R. N. Quality standardization of herbal medicines of *Spondias dulcis* Parkinson using analytical and microbiological analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Dordrecht, n. 3, v. 134, 1923–8, Dec. 2018.

CABRAL, Analucia Guedes Silveira. **Constituintes químicos de *Erythrina velutina* Willd.(FABACEAE)**. 2009. 179 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

DA-CUNHA, E.V.L.; DIAS, C.; BARBOSA-FILHO, J.M.; GRAY, A.I. Eryvellutinone, an isoflavanone from the stem bark of *Erythrina velutina*. **Phytochemistry**, New York, n. 6, v. 43, p. 1371–1373, Dec. 1996.

CUI, L.; NDINTEH, T.; NA, M.; THOUNG, P. T.; SILIKE-MURUUMU, J.; NJAMEN, D.; MBAFOR, J.T.; FOMUM, Z. T.; AHN, J. S.; OH, W. K. Isoprenylated flavonoids from the stem bark of *Erythrina abyssinica*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, n. 6, v.70, p. 1039–1042, May. 2007.

DIAS, K. C. F.; ALMEIDA, J. C.; VASCONCELOS, L. C.; BARBOSA, T. M.; XIMENES, N. C.; LEITÃO, A. P. A.; LOUCHARD, B. O.; PIMENTA, A. T. A.; PINTO, F. K. A. M. L.; HONÓRIO JUNIOR, J. E. R.; VASCONCELOS, S. M. M. Standardized extract of *Erythrina velutina* Willd. attenuates schizophrenia-Like behaviours and oxidative parameters in experimental animal models. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, n. 3, v. 71, p.379–389, Dec. 2018.

LEE, J. OH, W. K.; AHN, J. S.; KIM, Y. H.; MBAFOR, J. T.; WANDJI, J.; FOMUM, Z. T. Prenylisoflavonoids from *Erythrina senegalensis* as novel HIV-1 protease inhibitors. **Planta Medica**, Stuttgart, n. 3, v. 75, p. 268–270, 2009.

LOPES, Clara Raissa de França Rocha. ***Erythrina velutina* Willd : avaliação fitoquímica, farmacológica e biológica**. 2010. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2010.

LOPES, C. R. F. R.; LIMA, T. C.; NUNES, R. S.; SOUSA, D. P.; *Erythrina velutina* Willd. Fabaceae: uma revisão. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, n. 2, v. 6, p. 80–92. 2011.

OZAWA, M.; ETOH, T.; HAYASHI, M.; KOMIYAMA, K.; KISHIDA, A.; OHSAKI, A.; TRAIL-enhancing activity of Erythrinan alkaloids from *Erythrina velutina*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, Oxford, n. 1, v. 19, p. 234–236, Jan. 2009.

OZAWA, M.; HONDA, K.; NAKAI, I.; KISHIDA, A.; OHSAKI, A. Hypaphorine, an indole alkaloid from *Erythrina velutina*, induced sleep on normal mice. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, Oxford, n. 14, v.18, p. 3992–3994, June 2008.

OZAWA, M.; KISHIDA, A.; OHSAKI, A. Erythrinan Alkaloids from Seeds of *Erythrina velutina*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 59, n. 5, p.564–567, Feb. 2011.

PASSOS, A. G. S.; GONDIM, A. N. S.; ROMAN-CAMPOS, D.; CRUZ, J. S.; CONDE-GARCIA, E. A.; ARAÚJO NETO, V.; ESTEVAM, C. S.; CERQUEIRA, S. V. S.; BRANDÃO, G. C.; OLIVEIRA, A. B.; VASCONCELOS, C. M. L. The positive inotropic effect of the ethyl acetate fraction from *Erythrina velutina* leaves on the mammalian myocardium: the role of adrenergic receptors. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, n. 6, v. 65, p. 928–936, June 2013.

RUKACHAISIRIKUL, T.; INNOK, P.; SUKSAMRAM, A. Suksamrarn Erythrina alkaloids and a pterocarpan from the bark of *Erythrina subumbrans*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, n. 1, v. 71, p. 156–158, Jan. 2008.

SANTOS, L. W.; COELHO, M. F. B. Sombreamento e substratos na produção de mudas de *Erythrina velutina* Willd. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 4, p. 571–577, out./dez., 2013.

SANTOS, L.W., COELHO, M. F. B., AZEVEDO, R. A. B., LIMA, A. K. B., SOUZA, J. W. N. *Erythrina velutina* Willd. - Fabaceae: Árvore de múltiplos usos no nordeste brasileiro. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. v. 8, n. 5, p. 72 – 80, 2013.

SANTOS, W.P.; CARVALHO, A.C.S.; ESTEVAM, C.S; SANTANA, A.E.; MARÇAL, R.M. In vitro and ex vivo anticholinesterase activities of *Erythrina velutina* leaf extracts. **Pharmaceutical Biology**, v.50, n.7, p.919–924, 2012.

SILVA, M. M. B.; SANTANA, A. S. C. O.; PIMENTEL, R. M. M.; SILVA, F. C. L.; RANDAU, K. P.; SOARES, L. A. L. Anatomy of leaf and stem of *Erythrina velutina*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Curitiba, n. 2, v. 23, p. 200–206, Mar./Apr. 2013.

TOGOLA, A.; HEDDING, B.; THEIS, A.; WANGENSTEEN, H.; RISE, F.; PAULSEN, S. B.; DIALHO, D.; MALTERUD, K. E. 15-Lipoxygenase inhibitory effects of prenylated flavonoids from *Erythrina senegalensis*. **Planta Medica**, Stuttgart, n, 10, v.75, p. 1168–1170, 2009.

MATOS, F.J.A. **O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha**, 2nd ed. Universidade Federal do Ceará Edições, Fortaleza, CE, 257 p, 1997.

TESKE, M., TRENTINI, A.M.M. **Herbarium: Copêndio de Fitoterapia**, 2nd ed. Herbarium Laboratório Botânico, Curitiba, PR, 317 p, 1995.

BAJALAN, I.; ZAND, M.; GOODARZI, M.; DARABI, M. Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of the extract and chemical composition of the essential oil of *Eremostachys laciniata* collected from Zagros. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Singapore, n. 2, v. 7, p. 144–146, Feb. 2017.

CASUGA, F. P.; CASTILLO, A. L.; CORPUZ, M. J. T. GC–MS analysis of bioactive compounds presents in different extracts of an endemic plant *Broussonetia luzonica* (Blanco) (Moraceae) leaves. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Singapore, n. 11, v. 6, p.957–961, Nov. 2016.

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.

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, Apr. 2016.

- KIHM, A. J.; KONG, Y.; HONG, W.; RUSSELL, J. E.; ROUDA, S.; ADACHI, K.; SIMON, M. C.; BLOBEL, G. A.; WEISS, M. J. An abundant erythroid protein that stabilizes free alpha-haemoglobin. **Nature**, v. 417, p. 758–763, Jun. 2002.
- WOOLLARD, K. J.; STURGEON, S.; CHIN-DUSTING, J. P.F.; SALEM, H. H.; JACKSON, S. P. Erythrocyte hemolysis and hemoglobin oxidation promote ferric chloride-induced vascular injury. **Journal of Biological Chemistry**, Berlin, n. 19, v. 284, p. 13110–13118, 2009.
- XIANG, W.; WEISBACH, V.; STICHT, H.; SEEBAHN, A.; BUSSMANN, J.; ZIMMERMANN, R.; BECKER, C. M. Oxidative stress-induced posttranslational modifications of human hemoglobin in erythrocytes. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, n. 1, v. 529, p. 34–44, Jan. 2013.
- SINGH, R. P.; KAUR, G. Hemolytic activity of aqueous extract of *Livistona chinensis* fruits. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.46, n. 2, p. 553–556, Feb. 2008.
- PODOLAK, I.; GALANY, A.; SOBOLEWSKA, D. Saponins as cytotoxic agents: a review. **Phytochemistry Reviews**, v, 9, p. 425–474, 2010.
- CHO, H. J.; CHOI, S. A.; KIM, C. G.; HONG, J. H.; PARK, H. J.; PARK H. J. Dietary spinach saponin-enriched lipophilic fraction inhibits platelet and blood coagulation aggregation. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 7–8, 2011.
- RAMOS, R. M.; FEITOSA, M. J.; LIMA, V. S.; SANTOS, R. C.; OLIVEIRA, A. M.; SOARES, L. A. L.; SILVA, G. C. Comparative study of phytochemical composition, citotoxicity and potentials antioxidant and photoprotector of the bark and leaf of *Erythrina velutina*. **Brazilian Journal of Desenvolpente**, Curitiba, v. 6, n. 6, p.33140–33158, Jun. 2020.
- VOLPATO, A. M. M. **Investigação do potencial antibacteriano de *Calendula officinalis* (Asteraceae) para seu emprego como fitoterápico**. 2005. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- NOFIANI, R.; KURNIADI, R.; ARDININGSIH, P. Antimicrobial, antioxidant, hemolytic activities and toxicity of ethyl acetate extract from an unidentified coral-associated fungus, *aspergillus brevipes* RK06. **Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention**, v. 2, n. 2, p. 212–216, 2011.
- RAZA, M. M.; AL-SHABANAH, O. A.; EL-HADIYAH, T. M.; AL-MAJED, A. A. Effect of prolonged vigabatrin treatment of hematological and biochemical parameters in plasm, liver and kidney of Swis albino mice. **Journal of Scientia Pharmaceutica**, v. 70, p. 135–145, 2002.
- CROPLEY, M.; BANKS, A. P.; BOYLE, J. The effects of *Rhodiola rosea* L. extract on anxiety, stress, Cognition and Other Mood Symptoms. **Phytother. Res.**, v. 29, n. 12, 29, p. 1934–1939, 2015.
- CUINICA, L. G.; MACÊDO, R. O. Thermoanalytical characterization of plant drug and extract of *Urtica dioica* L. and kinetic parameters analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Dordrecht, v. 133, n. 1, p. 591–602, Jan. 2018.
- ANDRADE, J. C.; SANTOS, W. M.; NÓBREGA, F. P; ALMEIDA, L. F. FERNANDES, F. H. A.; SANTANA, C. P.; VERAS, G.; MEDEIROS, A. C. D. Thermal characterization of *Aspidosperma pyriforme* Mart. plant drugs. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Dordrecht, v. 138, n. 5, p. 3747–3756, Jan. 2019.
- CORREIA, L. P.; PROCÓPIO, J. V. V.; DE SANTANA, C. P.; SANTOS, A. F. O.; DE MEDEIROS CAVALCANTE, H. M.; MACÊDO, R. O. Characterization of herbal medicine with different particle sizes using pyrolysis GC/MS, SEM, and thermal techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Dordrecht v. 111, n. 3, p. 1691–1698, 2011. Doi:10.1007/s10973-011-2129-x.

RAMBO, D. F.; BIEGELMEYER, R.; TOSON, N. S. B.; DRESCH, R. R.; MORENO, P. R. H.; HENRIQUES, A. T. The genus *Erythrina* L.: a review on its alkaloids, preclinical, and clinical studies. **Phytotherapy Research**, New York, v. 33, 1258–1276, 2019.

RAMBO, D. F.; BIEGELMEYER, R.; TOSON, N. S. B.; DRESCH, R. R.; MORENO, P. R. H.; HENRIQUES, A. T. Box–Behnken experimental design for extraction optimization of alkaloids from *Erythrina verna* Vell. trunk barks and LC method validation. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 133, p. 250–258, Jul. 2019.

FEITOSA, L.G.P.; GUARATINI, T.; LOPES, J.L.C.; LOPES, N.P.; BIZARRO, A.C.; SILVA, D.B. Application of electron ionization mass spectrometry for mulungu alkaloid analysis **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 11, p. 2177–2180, 2012. Doi 10.1590/S0100-40422012001100014

RAMBO, D. F.; VIGNOLI-SILVA, M.; DRESCH, R.R.; BIEGELMEYER, R.; PASSOS, C. S.; MORENO, P.R.H.; NUNES, E.; MENTZ, L. A.; HENRIQUES, A. T. Morphoanatomical identification and physicochemical parameters of the drug *Erythrina verna* Vell. trunk bark **Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromat.**, Santiago, v. 12, n. 3, p. 243–256, 2013.

PEREIRA, C. B.; MARIN, A.; MAKI, T. D. T.; NECCHI, R. M. M.; MANFRON, M. P. Physico-chemical quality control and dosage of total polyphenols, flavonoids of *Morus alba* Leaves (MORACEAE). **Revista Saúde Santa Maria**, Santa Maria, v. 37, n. 2 p. 57–68, 2011.

LEAL NLFS. *Erythrina velutina* Willd alkaloids: study and identification by gas chromatography coupled with mass spectrometry. 2018. 107 f. Dissertação (Mestrado Interinstitucional em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal de Campina Grande, João Pessoa – PB, 2018.

MARCHIORO M., BLANK, M. F. A.; MOURÃO, R. H. V.; ANTONIOLLI, A. R. Anti-nociceptive activity of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves. **Fitoterapia**, New York, v. 76, p. 637–642, 2005.

MAHENDRA, P.; SHRADHA, B; Anti-anxiety activity of *Coriandrum sativum* assessed using different experimental anxiety models. **Indian Journal of Pharmacology**, New Delhi, v. 43, n. 5, p.1–5, 2011.

MOTA, T.H.S.; DE SOUZA, S.R.; SANTOS, A.P.; CUNHA, C.R.M. Estudo farmacognóstico das folhas da *Sterculia striata* St. Hil. Et. Naid., coletadas em Itapuranga-Go. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 7, n 1, p. 34–68, 2014.

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 plus-maze: profile comparisons with 8-OH-DPAT, CGS 12066B, TFMPP and mCPP1. **Behavioural Pharmacology**, London, v.3, p. 621–634, 1992.

RODGERS, R. J.; JOHNSON, N. J. T. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, New York, v. 52, p. 297–303, 1995.

ESPEJO, E. F. Structure of the mouse behaviour on the elevated plus-maze teste of anxiety. **Behavioural Brain Research**, New York, v. 86, p.105–112, 1997.

SETEM, J.; PINHEIRO, A. P.; MOTTA, V. A.; MORATO, S.; CRUZ, A. P. M. Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, New York, v.62, p.515–521, 1999.

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.

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.

COAN, C. M.; MATIAS, T. A. utilização das plantas medicinais pela comunidade indígena de Ventarra Alta-RS. *Revista de Saúde e Biologia, Campo Mourão*, v. 9, n. 1, p. 11–19, 2014.

BALBINO, E. E.; DIAS, M. F. Pharmacovigilance: A step towards the rational use of herbs and herbal medicines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 6, p. 992–1000, 2010.

ANTUNES, A. R. *Erythrina falcata* Benth. (FABACEAE): estudo etnobotânico, fitoquímico e biológico. **Revista Brasileira De Agroecologia**, Porto Alegre, v. 13, n. 4, p. 193, 2017.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Medicinal plants: safe cure? **Química Nova**, São Paulo. v. 28, n. 3, p. 519–528, Jun. 2005.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Artmed Editora, 2016.

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.

PEREIRA, H. N.; GUIMARÃES, G.P.; TROVÃO, D. M. M.; ALVES, H. S. Physicochemical characterization of the vegetal drug and nebulized extract of the roots from *Apodanthera congestiflora* Cogn. (Cucurbitaceae): An efficient experience in quality control of plant raw materials. **Journal of Thermal Analysis & Calorimetry**, Dordrecht, v. 137, n. 2, p. 361–368, Jul. 2019.

FARMACOPEIA brasileira: monografias. 6. ed. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Fundação Oswaldo Cruz, 2019. v. 1, p. 874.

CORRÊA, A.M.; ALVES, L.A.; ROCHA, J.A. Organizando os usos e funções dos vegetais: a etnobotânica auxiliando na prevenção e diminuição da cegueira botânica. **Educação, Santa Maria**, Santa Maria, v.46, n. 1 p. 1–26, Jan. 2021.

KELBER, O.; RUDOLF, B.; WOLFGANG, K. Phytotherapy in functional gastrointestinal disorders. **Digestive Diseases**, Cambridge, v. 35, n.1, 36–42, 2018.

BEZERRA, A. S. C. E.; FRANCO, S. P.B.; MOUSINHO, K. C.; FONSECA, S. A.; MATOS-ROCHA, T. J.; PAVÃO, J. M. S. J.; SANTOS, A. F. Situational diagnosis of professionals of family health units on phytotherapy. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 81, n. 3, p.551–56, 2021.

BARRETO G. E.; AVILA-RODRIGUEZ, M.; FOITZICK, M.; ALIEV, G.; ECHEVERRIA, V. Advances in medicinal plants with effects on anxiety behavior associated to mental and health conditions. **Current Medicinal Chemistry**, v.24, n. 4, p. 411–23. 2017.

BABY, A. R.; MACIEL, C. P. M.; SALGADO-SANTOS, I. M. N.; DIAS, T. C. S.; KANECO, T. M.; CONSIGLIERI, V. O.; VELASCO, M. V. R. Uso de extratos de plantas em produtos cosméticos. **Cosmetics e Toiletries**, Carol Stream, v. 17, p. 79–82, 2005.

FAHMY, N. M.; AL-SAYED, E.; EL-SHAZLY, M.; SINGAB, A. N. Alkaloids of genus *Erythrina*: An updated review. **Natural Product Research**, v. 34, n. 13, p. 1891–1912, 2019.

- PASSREITER, C.; SUCKOW-SCHNITKER, A. K.; KULAWIK, A.; ADDAE-KYEREME, J. Prenylated flavanone derivatives isolated from *Erythrina addisoniae* are potent inducers of apoptotic cell death. **Phytochemistry**, New York, v. 117, p. 237–244, 2015.
- SILVA, A.; FONSECA, F.; PIMENTA, A.; LIMA, M.; SILVEIRA, E.; VIANA, G.; VASCONCELOS, S.; 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**, Índia, v. 12, n. 48, p. 307–312, Oct. 2016.
- TEIXEIRA-SILVA F.; SANTOS, F. N.; SARASQUETA, D. F. O.; ALVES, M. F. S.; NETO, V. A.; DE PAULA, I. C. M.; ESTEVAM, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; MARCHIORO, M. Benzodiazepine-like effects of the alcohol extract from *Erythrina velutina* leaves: Memory, anxiety and epilepsy. **Pharmaceutical Biology**, Basingstoke, v. 46, n. 5, p. 321–8, Oct. 2008.
- RODRIGUES, F. T. S.; SOUSA, C. N. S.; XIMENES, N. C.; ALMEIDA, A. B.; CABRAL, L. M.; PATROCÍNIO, C. F. V.; SILVA, A. H.; LEAL, L. K. A. M.; HONÓRIO JUNIOR, J. E. R.; MACEDO, D.; VASCOCELOS, S. M. M. Effects of standard ethanolic extract from *Erythrina velutina* in acute cerebral ischemia in mice. **Biomed Pharmacother**, v. 96, p.1230–1239, 2017.
- Monteiro NKV. Evaluation of anti-inflammatory, anticoagulant and antiproliferative chymotrypsin inhibitor from seeds of *Erythrina velutina* (EVCI) activities. [Dissertation]. Natal: Federal University of Rio Grande do Norte; 2011.
- MACHADO, R. J. A.; MONTEIRO, N. K. V.; MIGLILOLO, 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.
- LUCENA, S. V; RUFINO, S. P; MOURA, G. E. D. D.; RABELO, L. M. A.; MONTEIRO, N. K. V.; FERREIRA, A. T.; PERALES, J. E. A.; UCHÔA, A. F., et al. The Kunitz chymotrypsin inhibitor from *Erythrina velutina* seeds displays activity against HeLa cells through arrest in cell cycle. **3 Biotech**, v 12, n. 1, Jan.
- MONTE, A.S.; AGUIAR, C. C. T.; ALMEIDA, A. B.; ARAÚJO, P. V. P.; VASCONCELOS, G. S.; SOUSA, C. N. S.; MENESES, L. N. M.; XIMENES, N. X.; GASPAR, D. M.; VASCONCELOS, S. M. M. Effect of flavonoids isolated from *Erythrina velutina* on oxidative stress in mouse brains. **Eur Neuropsychopharmacol**, Amsterdam, v. 24, p.S608–S609, 2014.
- SANTOS, M. R. V.; ALVES, P. B.; ANTONIOLLI, A. R.; MARCHIORO, M. Relaxant effects of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves on rat vas deferens. **Ver. Bras. Farmacogn.**, Curitiba, v. 17, p. 343–348, 2007.
- KALAIIVANI T., RAJASEKARAN C, SUTHINDHIRAN K, MATHEW L. Free radical scavenging cytotoxic and hemolytic activities from leaves of *Acacia nilotica* (L.) Wild. Ex Delile subsp. indica (Benth.) Brenan. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Oxford, v. 2011, p. 1–8, 2011.
- BESSA, M. C.; LACERDA, C. F.; AMORIM, A. V.; BEZERRA, A. M. E.; LIMA, A. D. Mechanisms of salt tolerance in seedlings of six woody native species of the Brazilian semi-arid. **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v. 48, n. 1, p. 157–165, 2017.
- CHACON, D. S.; TORRES, T. M.; SILVA, I. B., et al. *Erythrina velutina* Willd. alkaloids: Piecing biosynthesis together from transcriptome analysis and metabolite profiling of seeds and leaves. **Journal of Advanced Research**, Cairo, v.34, p. 123–136, Dec. 2021.

YONEKURA-SAKAKIBARA, K.; SAITO, K. Functional genomics for plant natural product biosynthesis. **Nat Prod Rep**, v. 26, n. 11, p. 1466–1487, Nov. 2009.

MATSUURA, H.N.; MALIK, S.; DE COSTA, F.; YOUSEFZADI, M.; MIRJALILI, M.H.; ARROO, M.H., et al. Specialized plant metabolism characteristics and impact on target molecule biotechnological production. **Mol Biotechnol**, Totowa, v. 60, n 2, p. 169–183, Feb. 2018.

RODRIGUES, T.; REKER, D.; SCHNEIDER, P.; SCHNEIDER, G. Counting on natural products for drug design. **Nat Chem**, v. 8, n.6, p. 531–541, Feb. 2016.

CUNHA, A. P.; ROQUE, O. R. Compostos quinônicos: Antraquinonas e Naftoquinonas. In: CUNHA, A. P. (Coord.). Farmacognosia e fitoquímica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2010.

SILVA, R. S. G.; PEIXOTO, J. C. Acanthaceae do bioma cerra: identificação dos fitoquímicos das folhas da espécie *Justicia thunbergioides* (Lindau) Leonard (Acanthaceae) ocorrente no Parque Estadual Serra dos Pireneus, Pirenópolis, GO. **Revista do Mestrado Multidisciplinar em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente**, v.2, n.1, p. 16–27, 2013.

BOUARAB-CHIBANE, L.; DEGRAEVE, P.; FERHOUT, H.; BOUAJILA, J.; OULAHAL, N. Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, New York, v. 99, n.15, p.1457–1474, Mar. 2019.

GLAVAC, K. N.; LUNDER, M. Preservative efficacy of selected antimicrobials of natural origin in a cosmetic emulsion. **Int. J. Cosmetic Sci**, Oxford, v. 40, 276–284, May. 2018.

KAO, T. H.; HUANG, S. C.; B.S. INBARAJ, B. S.; CHEN, B.H. Determination of flavonoids and saponins in *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino by liquid chromatography–mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, New York, v. 626, p. 200–211, 2008.

SALMERÓN-MANZANO, S.; GARRIDO-CARDENAS, J. A.; MANZANO-AGUGLIARO, F. Worldwide research trends on medicinal plant. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 17, n. 10, p. 3376, May. 2020.

SARRIS, J.; PANOSSIANC, A.; SCHWEITZER, I.; STOUGHB, C.; SCHOLEY, A. Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: A review of psychopharmacology and clinical evidence. **Eur Neuropsychopharmacol**, Amsterdam, v. 21, n. 12, p. 841–60, Dec. 2011.

VIAPIANA, A.; RADECKA, I.; WESOLOWSKI, M. Identification of diversity in elements content in medicinal plants belonging to different plant families. **Food Chemistry**, London, v. 120, n 1, p. 52-58, v. 120, n. 1, May. 2010.

ANEXO A- Protocolo utilizado na triagem farmacológica comportamental

Atividade farmacológica	Quantificação dos efeitos (0) sem efeito, (-) efeito diminuído, (+) efeito presente, (++) efeito intenso				
	Até 30 min	1h	2h	3h	4h
1 – SNC					
a. Estimulante					
Hiperatividade					
Agressividade					
Tremores					
Convulsões					
Piloereção					
Movimento intenso das vibrissas					
Outras					
b. Depressoras					
Hipnose					
Ptose					
Sedação					
Ataxia					
Reflexo do endireitamento					
Catatonía					
Analgesia					
Resposta ao toque diminuído					
Perda do reflexo corneal					
Perda do reflexo auricular					
c. Outros comportamentos					
Ambulação					
Bocejo excessivo					
Limpeza					
Escalar					
Vocalizar					
Sacudir a cabeça					
Contorções abdominais					
Abdução das patas do trem posterior					
Pedalar					
Estereotípiã					
2 - SN AUTÔNOMO					
Diarreia					
Constipação					
Defecação aumentada					
Respiração forçada					
Lacrimajamento					
Micção					
Salivação					
Cianose					
Tono muscular					
Força para agarrar					
3 – MORTE					
Observações complementares					

Fonte: Almeida et al. (1999).

ANEXO B - Certificado de aprovação pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual da Paraíba



Universidade Estadual da Paraíba

Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Campus I - Campina Grande - PB
e-mail: ceuauepb@gmail.com

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **CARACTERIZAÇÃO DA DROGA VEGETAL DE ERYTHRINA VELUTINA WILLD E PROSPECÇÃO DA ATIVIDADE ANSIOLÍTICA DO INFUSO DAS CASCAS**, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos, que envolve o uso de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, com o decreto 6.899 de 5 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual da Paraíba, em reunião de 09/02/2021, com protocolo de aprovação número **006/2020**.

Vigência da Proposta: de 02/2021 a 10/2021
Procedência dos animais: Centro de Bioterismo da UEPB
Espécie: *Mus musculus*
Linhagem: Swiss
Sexo: Machos e Fêmeas
Idade: 3 a 4 meses
Número de animais autorizados: 100 (cem animais)

Informação ao pesquisador:

Lembramos que o pesquisador responsável deverá encaminhar à CEUA-UEPB o **Relatório Final** baseado na conclusão do estado 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 10/2021.**

Campina Grande, 22 de fevereiro de 2021

POLLIANNA MUNIZ
ALVES:03088272446

Assinado de forma digital por POLLIANNA MUNIZ
ALVES:03088272446
Dados: 2021.02.22 15:25:14 -03'00'

Coordenador adjunto da Comissão de Ética no Uso de Animais/UEPB