



INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS DE *ACCA SELLOWIANA* POR MEIO DO TESTE DA PLACA QUEN- TE EM CAMUNDONGOS

Projeto de pesquisa desenvolvido na URI-Erechim

**Ana Rita Foletto Facchi¹, Tauane Galina² Silvane Souza Roman³, Juliana Roman⁴, Elisabete Maria Zan-
in⁵, Helissara Diefenthaler⁶**

¹ Bolsista do projeto; Estudante do curso de Farmácia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, Brasil. anarita.facchi@hotmail.com

² Estudante do curso de Farmácia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, Brasil. galinatauane@gmail.com

³ Doutora em Ciências Biológicas, Docente do Curso de Farmácia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, Brasil. roman@uricer.edu.br

⁴ Mestre em Ciências Farmacêuticas, Docente do Curso de Farmácia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, Brasil. juliana@uricer.edu.br

⁵ Doutora em Ecologia e Recursos Naturais, Docente do Curso de Farmácia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, Brasil. emz@uricer.edu.br

⁶ Doutora em Nanotecnologia Farmacêutica, Docente do Curso de Farmácia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, Brasil. helissara@uricer.edu.br

RESUMO

A dor é um mecanismo de defesa com a função de alertar sobre estímulos que podem causar uma lesão tecidual. Embora exista terapias para o controle da dor, há necessidade da busca de novos compostos principalmente com o objetivo de reduzir efeitos adversos. A plantas medicinais são amplamente estudadas pela variedade de compostos que apresentam. O objetivo desse estudo foi avaliar a atividade antinociceptiva do extrato das folhas de *Acca sellowiana* por meio do teste da placa quente em camundongos. A análise estatística por ANOVA, mostrou que o tempo de resposta ao estímulo térmico do grupo extrato (9,50 segundos) foi maior que os grupos CTL⁺ (8,72 segundos) e CTL⁻ (6,98 segundos), porém sem diferença significativa. Todavia, mais estudos sobre essa atividade devem ser realizados como o teste da formilina, teste de contorções abdominais além de um novo estudo com o teste de placa quente utilizando uma amostra maior de animais.



INTRODUÇÃO

A dor é considerada uma modalidade sensorial, decorrente da integração de diversos níveis neurais, desde a percepção do estímulo pelos receptores periféricos até o processamento no sistema nervoso central (SNC). Em tese, a dor é seguida por um impulso instintivo de que esse estímulo acabe, evitando uma possível lesão tecidual (DUTRA; 2012). É um mecanismo usado para alertar sobre uma possível lesão em nosso organismo, assim ativamos nossos modos de defesa ou fuga. Há inúmeras terapias para controle da dor assim como tratamentos analgésicos variados, porém com o desenvolvimento da pesquisa os produtos naturais tornaram-se uma alternativa terapêutica (BRAGA, R.M. 2016).

À vista disso, o emprego popular de produtos naturais, especialmente, daqueles provenientes de plantas medicinais, está entre as mais chamativas fontes de novos medicamentos. (AMARANTE, SANTOS 2011). A *Acca Sellowiana*, conhecida popularmente como goiabeira – serrana, faz parte da família *Myrtaceae* apresentando atividade anti-inflamatória e cicatrizante. É nativa do planalto meridional brasileiro e é amplamente cultivada como árvore ornamental e pelos seus frutos. (KULIKA, 2018). Nas folhas, frutos e flores da *Acca sellowiana* há várias propriedades químicas comprovadas: efeito gastroprotetor, antifúngico, anti bactericida, anti-alérgico, antitumoral, anti-inflamatório e antioxidante, relacionando – se à altas quantidades de macro e micronutrientes, compostos fenólicos, vitaminas e metabólitos secundários (KULIKA, 2018).

Levando em consideração as propriedades farmacológicas da *Acca sellowiana*, esta pesquisa tem como objetivo investigar a atividade antinociceptiva do extrato bruto das folhas de *Acca sellowiana* por meio do teste da placa quente em camundongos. Para a seguinte pesquisa utilizou-se o auxílio da placa quente para medir a latência de resposta ao estímulo termocéptico (Eddy, Leinbach, 1953).



METODOLOGIA

Obtenção do Extrato Bruto da *Acca sellowiana*

As folhas de *A. sellowiana* foram coletadas de plantas cultivadas em Sananduva, Rio Grande do Sul, no período da primavera. A planta foi identificada com o uso de chaves dicotômicas e um exemplar da coleção original foi depositado no Herbário Padre Balduino Rambo da URI Erechim (HPBR), sob registro: HPBR 12.646. O projeto está cadastrado no SISGEN sob código – AE68E7E e recebeu parecer favorável do CEUA sob número 82.

Para a obtenção do extrato, foi adaptado o método de Araruna *et al.* (2013). O material vegetal foi seco em estufa de circulação de ar e mantido a temperatura de 40°C até que apresentasse peso constante. As folhas secas foram trituradas em moinho de facas e o método de maceração (ANVISA, 2019) foi o escolhido para a extração dos compostos, na proporção 1:10 (m/v), utilizando-se como solvente a solução etanol: água (70:30, v/v). A filtração e renovação do líquido extrator foi realizada a cada 7 dias até o esgotamento do material vegetal. Após, os filtrados obtidos foram levados ao evaporador rotativo, sob pressão reduzida à temperatura de 55°C até eliminação total da fração orgânica do líquido extrator. Em seguida, foi congelado e liofilizado, resultando no extrato bruto seco que foi armazenado em frasco de vidro e sob refrigeração ($\pm 8^\circ\text{C}$).

Determinação do Perfil Fitoquímico

Para a determinação do perfil fitoquímico, foi realizada a pesquisa qualitativa dos metabólitos secundários alcaloides, flavonoides, cumarinas, compostos antracênicos livres, taninos, taninos condensados, taninos hidrolisáveis, glicosídeos cardiotônicos e saponinas conforme as referências. (VISHWAKARMA *et al.*, 2014; SILVA; LIMA, 2016; SIMÕES *et al.*, 2017).

- a) A identificação dos alcaloides foi realizada por meio dos reativos de Dragendorff (iodobismutato de potássio) e de Wagner (iodo iodeto de potássio). Para tanto, foram pesadas 1g do extrato bruto em béquer e adicionados 10 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 1%. A mistura foi filtrada e distribuída em dois tubos de ensaio. Em um



tubo de ensaio, foram adicionadas gotas do Reagente de Dragendorff e, em outro, foram adicionadas duas gotas do Reagente de Wagner. As reações foram observadas. Uma leve turbidez ou precipitado (respectivamente laranja e marrom) evidencia a possível presença de alcaloides.

b) Para a detecção dos flavonoides foi realizada a reação de Shinoda 2. Para tanto, foram pesados 0,2 g do extrato bruto em um béquer e adicionados 10 mL de etanol a 70%. Essa solução foi filtrada e 2 mL da mesma, transferida para um tubo de ensaio. Foram adicionados 1 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado mais um fragmento de magnésio (Mg) metálico e observado o desenvolvimento de coloração específica. A formação de coloração vermelha é indicativa da presença de flavonoides.

c) Para a identificação das cumarinas foi realizado o teste de fluorescência utilizando solução alcoólica de hidróxido de potássio (KOH). Para isso, foram pesadas 0,5 g do extrato bruto em um béquer e adicionados 5 mL de etanol a 30%. A mistura foi filtrada e transferida para tubo de ensaio. Foram adicionadas 5 gotas de solução alcoólica de KOH a 10%. A reação foi observada na luz ultravioleta. A reação positiva é evidenciada pelo aparecimento de fluorescência verde azulada.

d) A reação de Bornträger foi realizada para a detecção dos compostos antracênicos livres. Para isso, foram pesadas 0,2 g do extrato bruto em um tubo de ensaio e adicionados, sob este, 5 mL de hidróxido de amônio (NH₄OH) diluído. A reação foi observada. Uma coloração rósea ou avermelhada evidenciou a presença deste metabólito.

e) Para a identificação de taninos foi realizada reação com cloreto férrico. Para tanto, foram pesados 0,5 g do extrato bruto em béquer e adicionados 10 mL de água destilada. A mistura foi filtrada e 1 mL da mesma foi transferida para tubo de ensaio. Foi adicionada 2 gotas da solução aquosa de cloreto férrico a 2%. A solução foi agitada e mais 3 gotas do reativo foram adicionadas. O desenvolvimento da coloração foi observado. O aparecimento de precipitado escuro, indica a presença de taninos. Quando observada a tonalidade, pode-se verificar o tipo de taninos. Azul indica a presença de taninos hidrossolúveis, verde de taninos condensados e a mistura dos dois é indicada pela tonalidade acinzentada.



f) As reações de Keller-Kiliani e de Pesez foram utilizadas para a detecção dos glicosídeos cardiotônicos. Para tanto, foram pesadas 0,5 g do extrato em um tubo de ensaio e adicionados 5 ml de solução de etanol a 70%. Em seguida, foram adicionados 5 mL de água destilada e 1 gota de solução de acetato de chumbo ($\text{Pb}(\text{AcO})_2$) a 10%. A mistura foi agitada fortemente, deixada em repouso e, posteriormente, filtrada. Ao filtrado foram adicionados 8 mL de clorofórmio e, em funil de separação, foi realizada a extração. Deixou-se decantar a camada clorofórmica, que, em seguida, foi dividida em duas cápsulas de porcelana. O solvente foi evaporado em banho-maria até à secura. Em uma das cápsulas foi realizada a reação de Keller-Kiliani, onde 3 mL do reativo de Keller foram adicionados à cápsula e misturados. A mistura foi vertida lentamente para o tubo de ensaio contendo 2 mL de reativo de Killiani. O desenvolvimento da reação foi observado. A reação positiva mostra um anel castanho na interface dos reativos. Na outra cápsula de porcelana foi a reação de Pesez, na qual foram adicionadas três gotas de ácido fosfórico concentrado e misturado com bastão de vidro. A reação foi observada sob luz ultravioleta. A reação positiva mostra fluorescência verde azulada.

g) A identificação das saponinas foi realizada pelo método da agitação. Para isso, 0,5g do extrato bruto foram pesadas em um tubo de ensaio e 5 mL de água destilada foi adicionado. A mistura foi agitada energicamente por 15 segundos. Considera-se a presença de saponinas pela formação de espuma persistente por pelo menos 15 minutos.

Avaliação da Atividade Antinociceptiva

Teste da placa quente (*Hot plate*)

A avaliação da atividade analgésica foi realizada de acordo com Stoltz (2012). Foram estabelecidos os tempos de latência 1 e 2 e os animais alocados em três grupos os quais receberam os tratamentos via oral. Sendo: controle negativo - água (CTL^-), controle positivo- sulfato de morfina 10 mg/kg (CTL^+) e o grupo experimental - extrato de *Acca sellowiana* (EXP) na dose de 500mg/kg. Para evitar dano tecidual, o tempo máximo de permanência na placa aquecida foi de 20 segundos para o tempo de Latência 1 e 40 segundos para o tempo de Latência 2. Os resultados foram expressos como latência, em segundos, antes e depois dos tratamentos.



Procedimento

Antes do início do teste, os camundongos machos foram habituados à placa sem aquecimento, individualmente, por 1 minuto. Após a placa foi aquecida (55 ± 2 °C) e os animais então relocalados sobre a mesma e cronometrado o tempo de latência (LATÊNCIA 1) para lambe as patas posteriores ou pular. Imediatamente após o animal foi retirado da placa. O tempo de latência 1 apresenta como objetivo selecionar animais que apresentem sensibilidade ao estímulo térmico. Neste caso, latência superior a 10 segundos foi determinado a não inclusão dos animais. Em seguida, a determinação da latência 1, os tratamentos foram administrados por via oral. Passados 60 min dos tratamentos, os animais foram posicionados na placa e o tempo de latência 2 foi observado. Para a avaliação da atividade antinociceptiva foi considerado o tempo de resposta ao estímulo térmico (latência 2), caracterizado pelo comportamento de levantar ou lambe as patas (NOGUEIRA; et al., 2005).

Análise estatística

Para a análise estatística, foi empregada a análise de variância (ANOVA) para a comparação dos dados experimentais utilizando o *software GraphPad Prism 6.0*, considerando-se o valor de p significativo quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Determinação do Perfil Fitoquímico

Para a determinação do perfil fitoquímico, foi realizada a pesquisa qualitativa dos metabólitos secundários, obtendo desta forma os seguintes resultados.

Tabela 1- Metabólitos secundários presentes no extrato bruto e nas frações das folhas de *Acacia Sellowiana*.

Metabólitos	Resultados
Taninos	+++
Alcaloides	++
Cumarinas	-
Saponinas	+
Flavonoides	++



Antraquinonas	+/-
Compostos fenólicos	+
Glicosídeos	
cardiotônicos	-

Nota: (-): não identificado, (+/-): pouco, (+): intenso, (++) muito intenso, (+++) máxima intensidade.

Tempo de Latência

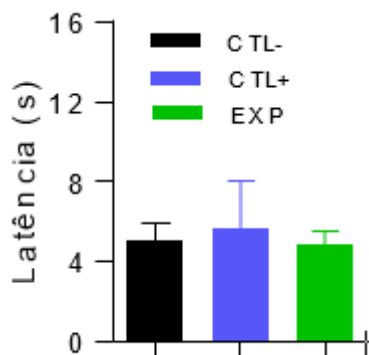
Para observar a atividade antinociceptiva foram avaliados os seguintes resultados

Tabela 2: Tempo de latência 1 expresso em segundos

GRUPOS	TEMPOS DE LATÊNCIA (s)					
CTL-	5,29	3,49	4,91	4,78	4,85	6,47
CTL+	4,24	6,85	3,15	9,08	7,03	3,47
EXP	4,28	5,77	4,02	5,52	4,86	4,13

Nota: tempo de latência 1 dos diferentes grupos, sendo eles: CTL⁻ (controle negativo), CTL⁺(controle positivo), EXP (experimental).

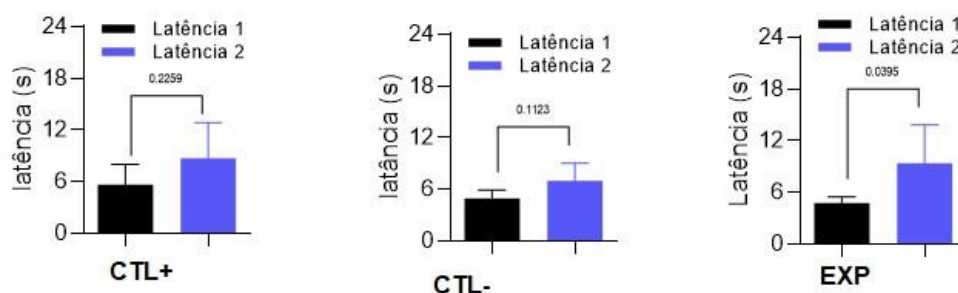
Figura 1: Tempo de latência 1 dos grupos experimentais





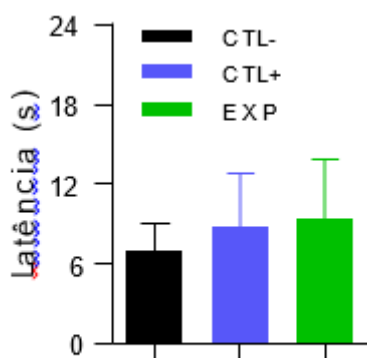
Nota: os resultados do tempo de latência 1 estão expressos em média \pm DP, sem diferença significativa entre os grupos $p > 0,05$ (ANOVA).

Figura 2 – Tempos de latência 1 e 2 expressos em segundos.



Nota: os resultados estão expressos em média \pm DP, sem diferença significativa entre os grupos sendo $p > 0,05$ (ANOVA).

Figura 3- Tempo de latência 2 expressos em segundos



Nota: o resultado do tempo de latência 2 está expresso em média \pm DP, sem diferença significativa entre os grupos sendo $p > 0,05$ (ANOVA).

DISCUSSÃO

Conforme expresso na tabela 1 identificou-se a presença de metabólitos secundários sendo eles: compostos fenólicos, taninos, alcaloides, cumarinas, saponinas, flavonoides e antraquinonas.



Dessa forma, presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares, os compostos fenólicos são estudados por apresentarem atividades farmacológicas e nutricionais. Também, por inibirem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos. (SOARES; 2002).

Os compostos fenólicos que constituem a *A. sellowiana*, são as substâncias químicas existentes na espécie, para que a mesma possa atuar como medicinal, provocando reações no organismo que as utiliza. Essas substâncias são sintetizadas a partir da luz e dos nutrientes que a planta recebe ou consegue extrair do solo. (GARLET, 2019).

Os taninos são associados, principalmente, com suas propriedades adstringentes. Além disso, precipitam proteínas, propiciando efeito antifúngico e antimicrobiano, também precipitam alcaloides servindo de antídoto em casos de intoxicações. Concomitantemente, auxiliam em cura de feridas, queimaduras e inflamações formando uma camada protetora. (MARCELINO; PAULINO; LIMA, 2005).

Encontrado em 20% das plantas vasculares os alcaloides são conhecidos por exercerem efeitos farmacológicos benéficos em animais vertebrados. Alguns exemplos são: vimblastina (antineoplásico) morfina e codeína (analgésico) papaverina (relaxante muscular) bem como, outros compostos como a cafeína, cocaína, nicotina e colchicina. (PACHECO; AMORIM, 2020).

As cumarinas podem apresentar grande contribuição na área da pesquisa para tratamento e prevenção de doenças, isso devido sua grande capacidade de interações não covalentes com estruturas proteicas. Destacam-se suas propriedades terapêuticas como agentes anticoagulantes, anticâncer, antineurodegenerativos. (FRANCO; et al. 2021).

Saponinas estão relacionadas com o sistema de defesa, são derivadas do metabolismo secundário das plantas. Possui capacidade de formar complexos esteroides, fosfolípidios e proteínas possibilitando ações biológicas variadas. (VIEIRA; 2011).

Os flavonoides que auxiliam na atividade imunológica, também atuam seletivamente, ocasionando a apoptose de células tumorais mieloides, como nos casos de leucemia (AMARANTE; 2012). Por outro lado, exercem efeitos benéficos sobre o organismo, pois são capazes de modular a atividade de enzimas afetando o comportamento de muitos sistemas celulares. (FILIPA; LOPES, 2011)



Antraquinonas são empregadas terapeuticamente como laxativos e catárticos, agem irritando o intestino grosso, aumentam a motilidade intestinal e conseqüentemente diminuem a reabsorção de água. (FIGUEIRÊDO; 2015).

Com relação a atividade antinociceptiva conforme demonstrado na tabela 2 e figura 1 todos os animais apresentaram tempo de latência 1 inferior a 10 segundos, sendo, portanto, utilizados para avaliar a latência 2. Além disso, não houve diferença significativa em a latência 1 dos grupos.

A figura 2 mostra os tempos de latência 1 e 2 dos grupos de animais. É observado que para todos os grupos ocorreu um aumento entre os tempos de latência 1 e 2. No entanto, apenas para o grupo extrato houve diferença significativa ($p < 0.05$). Esses resultados mostram que os animais que receberam o extrato apresentaram maior tempo de resposta ao estímulo térmico após 60 minutos da administração do extrato.

O teste da placa quente consiste em quantificar o tempo de reação do animal ao estímulo térmico (KUMAR; et al., 2016), portanto a latência 2 medidas 60 minutos após a administração dos tratamentos foi utilizada como o tempo de reação ao estímulo térmico.

No tempo de latência 2, acontece a segunda fase que, no animal, representa um tipo de dor inflamatória e envolve transmissão sináptica reforçada pela medula espinhal, assim como pela liberação dos mediadores inflamatórios locais. Dessa forma, drogas que possuem mecanismo de ação central, como a morfina, apresentam efeito nesta fase do teste. (SOUZA; et. al 2015). Isso sugere a presença de compostos com ação em nível periférico na *A. sellowiana*, atuando sobre a modulação da liberação de substâncias que induzem a nocicepção.

Conforme a figura 3 o tempo de resposta ao estímulo térmico do grupo extrato (9,50 segundos) foi maior quando comparado aos grupos CTL⁺ (8.72 segundos) e CTL⁻ (6.98 segundos), porém sem diferença significativa. Esses resultados sugerem uma tendência do extrato de *Acca sellowiana* em apresentar uma atividade antinociceptiva. No entanto, mais estudos sobre essa atividade devem ser realizados, como por exemplo o teste da formalina, teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético, além de um novo estudo com o teste de placa quente utilizando uma amostra maior de animais.

CONCLUSÕES



A dose de 500mg/kg de extrato de *Acca sellowiana* apresentou aumento no tempo de reação ao estímulo térmico. Dessa forma, é necessário a continuidade de pesquisas que investiguem essa atividade farmacológica nesta espécie.

PALAVRAS-CHAVE: tratamento; estímulo térmico; grupos experimentais; tempo de latência; resultados.

REFERÊNCIAS

AMARANTE et al., Centesimal and mineral composition of the fruit in Brazilian genotypes of feijoa (*Acca sellowiana*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 2019, v. 41, n. 6: (e-487).

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 6ª Ed. Brasília, 2019. Documento eletrônico. Disponível em: < <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeiabrasileira/arquivos/7985json-file-1>>. Acessado em: 03 jun. 2021.

ARARUNA, S. M.; SILVA, A. H.; CANUTO, K. M.; SILVEIRA, E. R.; LEAL, L. K. A. M. Influence of process conditions on the physicochemical characteristics of cumaru (*Amburana cearensis*) powder produced by spray drying. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, Curitiba, PR, v. 23, n. 1, p. 132-137, jan./feb. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p

BRAGA, R.M. **Avaliação da Atividade Antinoceptiva e Anti-inflamatória do Óleo Essencial de *Lippia pedunculosa***. 2016. 101p. **Dissertação** (Pósgraduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Farmacologia) – UFBP/CCS/IPeFarM, João Pessoa.

DUTRA, Marcela de Moura Garcia Bini. **Atividade antinociceptiva do nicorandil e seus possíveis mecanismos de ação**. 2012.

EDDY, Nathan B.; LEIMBACH, Dorothy. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl-and dithienylbutylamines. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 107, n. 3, p. 385-393, 1953.

FIGUEIRÊDO, Waleska Leão. **Avaliação e validação de metodologias analíticas por UVVIS e CLAE-DAD para quantificação de antraquinonas nos frutos de *Senna angustifolia* Vahl**. Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Inovação Terapêutica, 2015.

FILIPA, Diana; LOPES, Afonso. **Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade Anti-microbiana**. Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2013

FRANCO, Daiana P. et al. A IMPORTÂNCIA DAS CUMARINAS PARA A QUÍMICA MEDICINAL E O DESENVOLVIMENTO DE COMPOSTOS



BIOATIVOS NOS ÚLTIMOS ANOS. **Química Nova**, v. 44, p. 180-197, 2021.

GARLET, Tanea Maria Bisognin. Plantas medicinais nativas de uso popular no Rio Grande do Sul. Santa Maria, RS, 2019

KULIKA, Liandra Harine; AVALIAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS E FRUTOS DE *Acca sellowiana* (Berg.) Burret NO DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS DE SOLO. Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018.

KUMAR, Raju Senthil et al. Beneficial effects of methanolic extract of *Indigofera linnaei* Ali. on the inflammatory and nociceptive responses in rodent models. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, p. 113-123, 2016.

MARCELINO MONTEIRO, Julio; PAULINO, Ulysses; LIMA ARAUJO, Elcida. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, 2005.

NOGUEIRA, F. L. P. et al. Atividade analgésica e antiedematogênica de *Polygala paniculata* L.(Polygalaceae) selvagem e obtida por micropropagação. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 310-315, 2005.

PACHECO BORGES, Larissa; ALVES AMORIM, Víctor. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v.11, n.1, p.54-67, 2020.

SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V.E. **Fitoterapia racional**: um guia de fitoterapia para as ciências da saúde. 1ed. Barueri: Manole. p. 1 – 2, 2002.

SILVA, A. C. O.; LIMA, R. A. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. **REGET**, v. 20, n. 1, p. 381-388, 2016.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: **Artmed**, 2017.

SOARES, Sergio Eduardo. **Ácidos fenólicos como antioxidantes**. Universidade de Marília. Marília, SP, Brasil, 2002.

SOUZA, Grasielly Rocha et al. Atividade antinociceptiva do extrato etanólico das folhas de *Morus nigra* L.(Moraceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 1, 2015.

VISHWAKARMA, S.; CHANDAN, K.; JEBA, R. C.; KHUSHBU, S. Comparative study of qualitative phytochemical screening and antioxidant activity of *Mentha arvensis*, *Elettaria cardamomum* and *Allium porrum*. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**. v. 4, n.5, 2014.

VIEIRA CASTEJON; Fernanda. **Taninos e Saponinas**. Universidade federal de goiás, Goiânia, 2011.