

## Avaliação do Efeito Neuroprotetivo de *Sebastiania hispida* (Mart.) Pax em um Modelo de Neuropatia Periférica em Camundongos

### Evaluation of the Neuroprotective Effect of *Sebastiania hispida* (Mart.) Pax in a Mouse Peripheral Neuropathy Model

Andrew Camargos Silva<sup>a</sup>; Juliana Topázio Ribeiro Fontoura<sup>a</sup>; Keser Paschoal Lucas Santos<sup>a</sup>; Luís Guilherme Pedrosa Garcia<sup>a</sup>; Marina Sousa Santos<sup>a</sup>; Rafael Vilela de Campos<sup>\*a</sup>; Yashmin Caroline Furusho Becker<sup>a</sup>; Baldomero Antonio Kato da Silva<sup>b</sup>; Tatiane dos Santos Fernandes<sup>c</sup>; Lígia Maria Mendes Martins de Moura<sup>d</sup>; Gilberto Gonçalves Facco<sup>d</sup>; Rosemary Matias<sup>d</sup>; Doroty Mesquita Dourado<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Universidade Anhanguera Uniderp, Curso de Medicina. MS. Brasil.

<sup>b</sup>Universidade Federal do Piauí, Departamento de Medicina. Parnaíba, PI, Brasil.

<sup>c</sup>Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias. MS, Brasil.

<sup>d</sup>Universidade Anhanguera Uniderp, Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional. MS, Brasil.

\*E-mail: vilelacampos9@gmail.com

#### Resumo

A neuropatia periférica é o resultado de diversas patologias, entre essas se destacando a diabetes, as doenças autoimunes e intoxicações por metais pesados como chumbo e agrotóxicos, existentes na sociedade contemporânea, e em virtude de tal fato, o estudo para a prevenção e tratamento da mesma se faz necessário. O propósito do estudo foi comparar fatores clínicos, morfológicos, bioquímicos e inflamatórios entre diferentes grupos experimentais de camundongos com neuropatia periférica induzida pela compressão do nervo ciático e grupo controle. O estudo busca minimizar seus efeitos por meio do uso do extrato à base da planta *Sebastiania hispida*, comparando a mesma com os resultados do tratamento convencional com a gabapentina, um anticonvulsivante com o maior número de evidências científicas para dor neuropática, porém, de alto custo. Trata-se de um estudo randomizado com 40 camundongos isogênicos *Swiss*, divididos em 8 grupos com 5 indivíduos em cada, sendo esses: Sham (G1), Controle (G2), Extrato à base de *S. hispida* via tópica (G3) e Gabapentina via oral (G4), sendo que estes 4 grupos foram observados em um período de 7 dias e outros 4 grupos em 14 dias. Neste estudo, avaliou-se a fitoquímica da *S. hispida*, evidenciando uma concentração elevada de flavonoides, que demonstrou sua eficácia neuroprotetiva, na avaliação funcional do nervo ciático, comparado com a histopatologia. Concluiu-se que o tratamento tópico com o extrato à base de *Sebastiania hispida* contribuiu para a recuperação funcional do nervo ciático, além da regressão da ferida e da cicatrização do nervo ciático.

**Palavras-chave:** Dor Neuropática. Nervo Ciático. Tratamento com Plantas Mediciniais. Flavonoides.

#### Abstract

*Peripheral neuropathy is the result of various pathologies existing in contemporary society, and because of this fact, the study for its prevention and treatment is necessary. The purpose of the study was to compare clinical, morphological, biochemical and inflammatory factors among different groups of mice with peripheral neuropathy, induced by sciatic nerve compression and without peripheral neuropathy. The study seeks to minimize its effects through the use of Sebastiania hispida plant extract, comparing it with the results of conventional treatment with gabapentin, an anticonvulsant with the largest amount of scientific evidence for neuropathic pain, but costly. This is a randomized study of 40 isogenic Swiss mice, divided into 8 groups with 5 individuals each: Sham (G1), Control (G2), S. hispida Extract based on topical (G3) and Gabapentin via (G4), with 4 groups being observed within seven days and 4 groups within 14 days. In this study, the phytochemistry of Sebastiania hispida was evaluated, showing a high concentration of flavonoids, which demonstrated its neuroprotective efficacy in the functional evaluation of the sciatic nerve compared with histopathology. It was concluded that topical treatment with S. hispida extract contributed to the functional recovery of the sciatic nerve, as well as wound regression and sciatic nerve healing.*

**Keywords:** Neuropathic Pain, Sciatic Nerve. Herbal Medicine. Treatment with Medicinal Plants. Flavonoids.

#### 1 Introdução

A dor foi definida no ano de 1986, pela Associação Internacional para o Estudo da Dor e consiste em uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada ou relacionada a lesão real ou potencial dos tecidos. Cada indivíduo aprende a utilizar esse termo usando suas experiências anteriores (MERSKEY; BOGDUK, 1994).

A dor neuropática surge como consequência direta de uma lesão ou em doenças degenerativas, como o diabetes, amiloidose, consumo excessivo de álcool ou doenças neoplásicas por exemplo, que afetam diretamente o sistema somatossensorial, interferindo negativamente na qualidade

de vida dos seus portadores (RIFFEL *et al.*, 2018). Essa está relacionada com as mudanças deletérias nos neurônios nociceptivos e mecanorreceptores de baixo limiar, afetando o sistema somatossensorial (BARON, 2009). É considerada uma condição mal adaptativa, visto que diminui, extensivamente, a qualidade de vida dos pacientes (WOOLF, 2010). A neuropatia periférica é uma injúria que acomete aproximadamente 2% da população em geral e 8% em adultos com mais de 55 anos (MARTYN; HUGHES, 1997).

O nervo ciático se origina distalmente ao plexo lombossacral, estendendo-se até os membros inferiores e sendo responsável por grande parte funcional desses. Esse

nervo dá origem ao ápice do plexo sacral, sendo a sua localização anterior à articulação sacroilíaca e ao músculo piriforme (DISTAD; WEISS, 2013). Lesões no nervo ciático estão fortemente relacionadas com dores e limitações no membro inferior.

Essas lesões se manifestam com dores na região lombar baixa em graus variáveis de intensidade, irradiando para a região posterior do membro inferior ipsilateral e região glútea, associa-se, também, muitas vezes, às alterações de sensibilidade e prejuízos motores (AGNOLLITTO *et al.*, 2017). Os nervos são constituídos de tecido conjuntivo e componente neural. O tecido conjuntivo dos nervos é formado por três camadas distintas: endoneuro, perineuro e epineuro, do interior para a exterior, e são responsáveis por organizar e proteger as fibras nervosas (KAPLAN *et al.*, 2009). O mecanismo mais importante para surgimento da dor é a lesão das terminações nervosas sensitivas. A descarga ectópica pode se originar a partir da área lesada do segmento axonal do nervo lesionados, mas a maioria parece se originar no corpo dos neurônios sensoriais, que se encontram no gânglio da raiz dorsal. Entre a multiplicidade de fatores que têm sido responsabilizados, os canais iônicos são alvos atraentes em função de seu papel proeminente no controle da excitabilidade neuronal, como os canais de sódio que parecem ter papel relevante na persistência de comportamentos da dor e/ou atividade ectópicas e subtipos de canais de potássio fortemente regulados por lesão traumática, que poderiam explicar mudanças de excitabilidade de fibras mielinizadas e emergência de fenótipos de dor (FONSECA *et al.*, 2016).

Existem poucas formas de tratamento para a neuropatia periférica e pesquisas relacionadas a esse assunto são escassas no Brasil. Os principais agentes usados no tratamento farmacológico são os antidepressivos tricíclicos, anticonvulsivantes, determinados opioides e agentes tópicos como a lidocaína (MEDAWAR; MATHEUS, 2012). Dessa forma, faz-se necessária a investigação de novos tratamentos e fármacos para a neuropatia periférica, visto que a gabapentina, a qual é usada como um dos medicamentos de primeira linha possui grande número de efeitos colaterais, como sonolência, vertigem, distúrbios gastrointestinais e edema periférico, além de que pacientes com insuficiência renal devem ter cuidados adicionais e o uso de doses menores pode ser necessário (SANTOS; SOUZA, 2011).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) tem incentivado o uso de plantas pela medicina tradicional (WHO, 2013), visto que o extrato vegetal possui potencial para ter efeitos colaterais brandos, além de que esse extrato tem sido amplamente utilizado para o tratamento de diversas doenças.

O Brasil possui a maior diversidade de plantas distribuídas em cinco biomas, entre esses está o Cerrado, que ocupa uma área de 204,7 milhões de hectares e engloba parte dos Estados da Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Piauí, São Paulo e Tocantins,

além do Distrito Federal (IBGE, 2004). Em especial, o Mato Grosso do Sul, além da diversidade de espécies botânicas há forte influência do uso deste material para a cura e tratamento de doenças, por parte das comunidades indígenas e tradicionais, refletindo em diferentes formas de utilização terapêuticas desses recursos naturais (BUENO *et al.*, 2005).

Assim, o uso tradicional de plantas medicinais com finalidade terapêutica levou a Anvisa a conceituar plantas medicinais como: “aquelas consumidas com a finalidade de promover o alívio e até mesmo curar certos tipos de doenças”, sendo necessários estudos que possam comprovar realmente a eficácia terapêutica da planta, antes do seu consumo, evitando danos nocivos à saúde, tais como intoxicações, comprometimento da funcionalidade do organismo e até mesmo o óbito (BRUNING *et al.*, 2012).

Entre as espécies de Mato Grosso do Sul com uso na medicina tradicional está a *Sebastiania hispida*, um arbusto, conhecido popularmente como mercúrio, de ocorrência no Pantanal (CRISPIM *et al.*, 2002; CARDOSO *et al.*, 2000) e no Cerrado de Mato Grosso do Sul (POTT; POTT, 1994). Esta espécie é empregada popularmente no tratamento de feridas externas (POTT; POTT, 1994).

Por estas características, essa espécie vem sendo objeto de estudo para comprovar sua eficácia terapêutica, como em estudos (BARROS *et al.*, 2010), que verificaram a capacidade do extrato etanólico em reduzir o processo inflamatório induzido pela injeção de veneno bruto de *Bothrops moojeni*. O extrato etanólico e uma formulação de suas partes aéreas (folhas e caules) da planta foi ativo na cicatrização de feridas induzidas em modelos experimentais comparados ao laser de baixa potência (RIZZI *et al.*, 2016). Em sequência, o mesmo grupo de pesquisa comprovou a eficácia dos géis à base do extrato etanólico na reparação tecidual no tratamento de feridas infectadas como terapia complementar para o fechamento de feridas infectadas e a eficácia da planta foi relacionada ao elevado teores de compostos fenólicos, flavonoides e triterpenos (MULLER *et al.*, 2018).

A *S. hispida* possui metabólitos secundários que originam seus efeitos fitoterápicos, tais como flavonoides, taninos e saponinas. A casticina é um flavonoide extraído da planta *Croton betulaster* pertencente a mesma família da *S. hispida* (Euphorbiaceae) e possui efeito neuroprotetor por diminuir a morte neuronal e modular o conjunto de progenitores neuronais (SPOHR *et al.*, 2010).

Diante do exposto, evidencia-se a necessidade de dar continuidade a comprovação do potencial anti-inflamatório do extrato etanólico de *S. hispida*. Assim, este trabalho tem por objetivo avaliar a eficácia neuroprotetiva do extrato bruto de *S. hispida* por meio de Testes funcionais do nervo ciático de camundongos com neuropatia periférica induzida pela compressão do nervo ciático e avaliar o processo cicatricial do nervo ciático em pele dos animais tratados com extrato da planta via tópica, em comparação com o medicamento

gabapentina via oral; avaliar o efeito do tratamento agudo e crônico da gabapentina no processo inflamatório relacionado à neuropatia, assim como relacionar com os fitoconstituintes.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Coleta do material botânico e preparo do extrato

As partes aéreas (folhas e caules) de *S. hispidam* foram coletadas, no período matutino, de 10 matrizes localizadas em áreas com vegetação nativa de Campo Grande (latitude -20° 26' 34", longitude -54° 38' 47" altitude 532 metros), Mato Grosso do Sul. Após a identificação botânica um exemplar foi catalogado e incorporado ao acervo com o número 7826.

O material botânico, no mesmo estágio vegetativo, após a exclusão de folhas e caules velhos e/ou danificados, este foi seco em estufa circuladora de ar 40 °C (Marconi®, Modelo MA35), triturado em moinho de facas de aço inoxidável (Marconi®, Modelo MA048) e armazenado em frascos hermeticamente fechados e protegidos da luz e do calor e rotulado.

O extrato etanólico bruto foi obtido a partir de 500 g de pó extraídos com etanol (99,5 %), em banho de ultrassom (Unidque®, 1450) por 60 minutos, para romper a parede celular, em sequência foi submetido à maceração estática por 24 horas, o material foi filtrado e a solução extratora armazenada em frasco âmbar. O método de extração foi repetido por nove dias e as soluções extratoras reunidas e o solvente evaporado em evaporador rotativo (Tecnal®, Modelo MA120), o procedimento foi adaptado de Muller *et al.* (2018) e a secagem final do extrato ocorreu em dessecador sob pressão reduzida e obteve-se 28 g de extrato bruto etanólico.

### 2.2 Prospecção da fitoquímica e quantificação de fenóis e flavonoides

A prospecção fitoquímica do extrato etanólico para caracterização das classes de metabólitos secundários foram: compostos fenólicos (reação de precipitação com cloreto férrico), naftoquinona (reação ácido/base), flavonoides (reação de cianidina e ácido sulfúrico), taninos (reação com sais de ferro, precipitação de proteínas), cumarinas (KOH/luz ultravioleta), triterpenos e esteroides (reação de Liebermann-Burchard), heterosídeos cianogênicos (teste de Guignard), heterosídeos cardioativos (teste de Baljet e de Kedde), saponinas (reação de Lieberman-Burchard) e açúcares redutores (reação de Benedict). Esses ensaios seguiram metodologia adaptada de estudos de Simões *et al.* (2017) e Matos (2009). Especificamente, as saponinas foram estimadas por meio do teste do índice de espuma (Índice Afrosimétrico), esse índice indica a maior diluição em água que o extrato etanólico é capaz de formar 1cm de espuma (ATHAYDE *et al.*, 2017).

As determinações ocorreram por meio de reações

de caracterização com a visualização de formação de precipitado, turvação e/ou mudança de cor (FONTOURA *et al.*, 2015), classificando os resultados em: Fortemente positivo (+++ = 100%), moderadamente positivo (++ = 50%), fracamente positivo (+ = 25%) e parcialmente positivo ( $\pm$  = 10%), quando ocorreu apenas turvação ou cor parcialmente alterada. Na ausência de cor ou precipitação foi considerada negativa (-). Todas as análises foram executadas em triplicata e comparadas com a solução original do extrato etanólico.

Para quantificar os teores de fenóis totais (FT) se utilizou 100 mg do extrato bruto etanólico e o método empregado foi o de Folin-Ciocalteu's. O ácido gálico (EAG 10 a 300 µg/mL) foi o padrão para a construção da curva da curva de calibração ( $y = 0,781 x - 0,0031$ ;  $R^2 = 0,9959$ ). As absorvâncias foram medidas em espectrofotômetro na região de 750 nm, em cubetas de quartzo e as análises executadas em triplicatas (SOUSA *et al.*, 2007).

Na quantificação de flavonoides 100 mg do extrato bruto etanólico foi utilizado nas análises e o método empregado foi o Cloreto de alumínio e como padrão a quercetina, para construir a curva de calibração ( $y = 0,132 x + 0,0353$   $R^2 = 0,9949$ ). As análises foram desenvolvidas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 425 nm, em cubetas de quartzo, e executadas em triplicata, o cálculo das médias foi acompanhado do desvio padrão (PEIXOTO *et al.*, 2008).

Parte deste extrato foi utilizado para elaborar uma formulação à base de gel carbopol (Formulação 1) e da formulação à base do extrato enriquecido com quercetina (Formulação 2).

### 2.3 Gabapentina

A gabapentina tem sido empregada com sucesso na dor neuropática de várias doenças. É um fármaco com ação anticonvulsivante, atua diminuindo a liberação de neurotransmissores excitatórios na fenda sináptica (KRAUSE, 2016), sendo muitas vezes o tratamento de escolha para essas patologias. Neste estudo, a gabapentina foi usada como base para comparação em relação ao fitoterápico à base de *S. hispidam*. Foi administrado via oral por meio de gavagem, sendo a dose de gabapentina 0,2mL de 12/12h. O período de tratamento se estendeu desde a cirurgia até a eutanásia, seguindo os grupos de 7 e 14 dias.

Foram utilizados 40 camundongos isogênicos *Swiss*, machos (pesando aproximadamente 35-40g), em períodos de 7 e 14 dias os quais foram mantidos em condições controladas de luminosidade (12 horas de luz/12 horas de escuro) e temperatura (média de 23 °C) recebendo água e ração comercial (Nuvital®) à vontade. O trabalho foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Anhanguera Uniderp-CEUA 3082.

Para realizar o esmagamento do nervo ciático, os animais foram anestesiados com cloridrato de Ketamina + Xilazina

a (0,1 mL/100g), via intraperitoneal. O nervo ciático direito foi abordado através de uma incisão cutânea longitudinal retilínea de 1,0 cm de comprimento na face lateral da coxa, indo desde o trocânter maior até o joelho. Uma vez exposto, o nervo foi submetido a uma lesão por esmagamento com auxílio de uma pinça não serrilhada por 10 segundos até o primeiro estágio da gramalheira da pinça (BAPTISTA *et al.*, 2007). Em seguida, o nervo era, cuidadosamente, destacado da pinça e reposto em seu leito original, a ferida cirúrgica sendo fechada por planos com pontos isolados de nylon de calibre 5/0 (Mononylon, Ethicon®), (MONTE-RASO *et al.*, 2006). A eutanásia dos animais foi realizada por meio do uso do anestésico cloridrato de Ketamina + Xilazina (0,4mL a cada 100g) em dose letal. Esta técnica está documentada e aceita pelo Comitê de Ética no Uso de Animais, número 3082 e está de acordo com o Anexo à Resolução nº 37, de 20 de setembro de 2018.

Os animais foram organizados em 4 grupos, nos quais o grupo 1 (grupo sham; n=5): foram submetidos a exposição do nervo ciático; grupo 2 (grupo controle; n=5): submetidos a constrição do nervo ciático; grupo 3 (grupo extrato; n=5): submetidos à constrição do nervo ciático e tratados, via tópica 1 vez ao dia, com o extrato etanólico a 0,2 % de *Sebastiana hispidia*, 20 mg/dia. O grupo 4 (n=5): foram submetidos a constrição do nervo ciático e tratados com o medicamento gabapentina por meio de gavagem 0,2 mL de 12/12h.

## 2.4 Cicatrização

A eutanásia foi realizada após 7 e 14 dias de tratamento, as amostras dos nervos e envoltórios foram retiradas e imersas em solução de formol 10% tamponado e após processadas em concentrações crescentes de álcool, de xilol, incluídas em parafina e cortados em micrótomo com aproximadamente 5µm de espessura. Os cortes obtidos foram corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina (LUNA, 1968), para posterior análise em microscópio óptico.

## 2.5 Teste funcional do nervo ciático

Os animais foram avaliados a cada sete dias através do Índice Funcional do Nervo Ciático. Para obtenção dos parâmetros necessários, os animais foram posicionados em uma plataforma de vidro, com 50 cm de comprimento, 4,5 cm de largura e 10 cm de altura para as proteções laterais, o qual o fundo é feito de vidro e abaixo desse há um espelho em um ângulo de 45° de inclinação (BAPTISTA *et al.*, 2007). Sendo colocados entre barreiras com espaço delimitado por 10 cm que impedia deambulação e fotografados com câmera digital de 12 megapixels, resolução 4608x2592 a distância constante de 15 cm. As imagens obtidas foram utilizadas para o cálculo do Índice Funcional do Nervo Ciático seguindo a metodologia aplicada por Possamai *et al.* (2012). A partir das imagens coletadas, os seguintes parâmetros foram obtidos: comprimento da pegada (PL), a distância entre os dedos intermediários (TS) e a medida entre o primeiro e quinto

dedo (IT), os quais dependem da ativação dos músculos gastrocnêmio, extensores e intrínsecos da pata (CIDRAL FILHO, 2011). As imagens obtidas foram, posteriormente, analisadas por planimetria digital, mediante aplicação do software “Image-J”. As imagens foram coletadas no lado operado (EPL), (ETS), (EIT), quanto no lado não operado (NPL), (NTS) e (NIT).

Para o cálculo do Índice Funcional do Nervo Ciático (IFC) foi utilizada a seguinte fórmula:

$$SFI = (-38.3 \times PLF) + (109.5 \times TSF) + (13.3 \times ITF) - 8.8$$

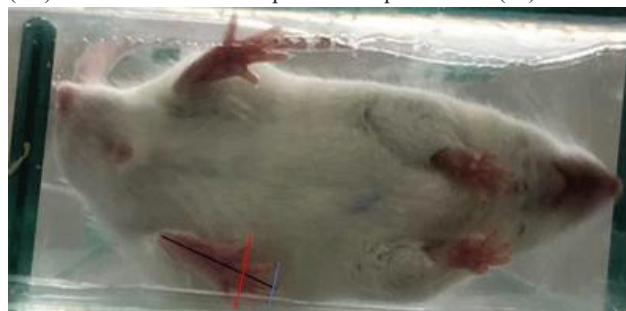
$$PLF = (EPL-NPL)/NPL$$

$$TSF = (ETS-NTS)/NTS$$

$$ITF = (EIT-NIT)/NIT$$

Em ambos os índices, um valor de 0 corresponde à função e um valor de -100 corresponde à completa perda de função de um lado.

**Figura 1** - Índice funcional do nervo ciático. Esquema da foto e avaliação do índice funcional do ciático. Preto: comprimento da pegada (PL). Vermelho: distância entre os dedos intermediários (TS). Azul: medida entre o primeiro e quinto dedo (IT)



Fonte: Os autores.

## 2.6 Acompanhamento da regressão da ferida

Todos os animais tiveram suas lesões fotografadas após a cirurgia e após a eutanásia por câmera digital 12 megapixels, resolução 4608x2592 à distância constante de 15 cm. Os dados assim obtidos do processo de cicatrização foram registrados em protocolo para posterior comparação, por planimetria digital, mediante aplicação do software “Image-J” (CIDRAL FILHO, 2011). A avaliação da cicatrização foi realizada em todos os animais mediante a mensuração da área de retração do ferimento a cada 7 dias, desde o dia da cirurgia até o dia da eutanásia. Após capturar a imagem da lesão através da câmera digital, estas foram importadas para o programa “Image-J”, que foi desenvolvido no National Institutes of Health (EUA). O cálculo da área tomou como referência a medida do maior diâmetro, medido com paquímetro digital, e a formatação da figura geométrica em que se transformou o ferimento, expresso em medida decimal.

## 3 Resultados e Discussão

### 3.1 Análise Química

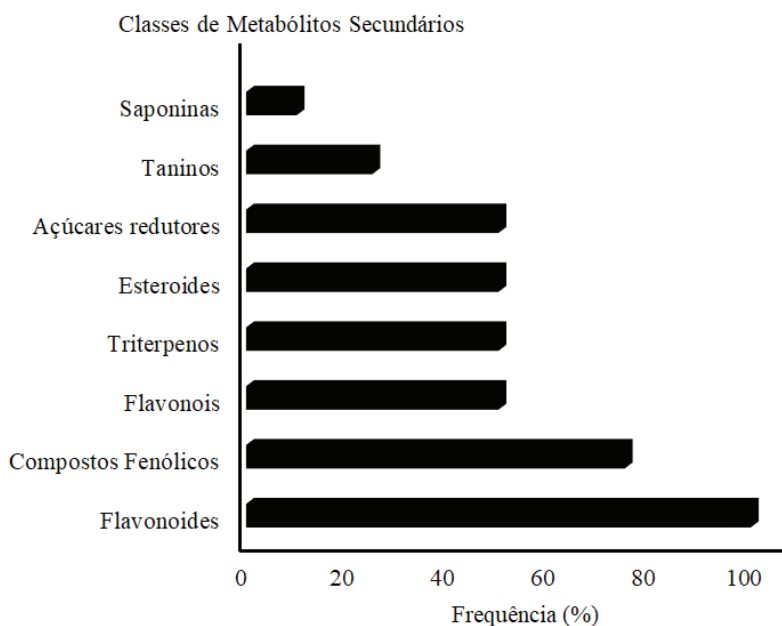
Na prospecção fitoquímica do extrato etanólico de *S. hispidia* foi evidenciado a presença de compostos fenólicos, flavonoides, flavonóis, taninos, esteroides, triterpenos



saponinas e açúcares redutores. Estes resultados estão de acordo com outros trabalhos de Muller *et al.* (2018); Rizzi *et al.* (2016), exceto para os flavonois e açúcares redutores presentes em achados e a ausência de heterosídeos cardiotônicos, mostra-se como um resultado promissor, uma vez que os compostos

fenólicos simples e os polifenóis como os flavonoides, flavonas e taninos são grupos importantes com potencial antioxidante e anti-inflamatório e adicionalmente os taninos são importantes na cicatrização, pois interagem com a proteínas, acelerando o processo de regeneração seguido de cicatrização.

**Figura 2** - Gráfico da frequência (%) de Metabólitos Secundários detectados no extratoetanólico das folhas e caules de *S. hispida*, Campo Grande-MS, Brasil



Fonte: dados da pesquisa.

Em relação ao conteúdo de compostos fenólicos totais de  $199,5 \pm 7,8$  mg/100 g estes foram inferiores aos encontrados por Muller *et al.* (2018) ( $238,8 \pm 0,9$ mg/100g) e superiores aos achados de Rizzi *et al.* (2016) ( $160,4 \pm 0,2$  mg/100g). Os flavonoides não seguiram o mesmo perfil dos compostos fenólicos, valor obtido de  $176,7 \pm 0,85$  mg/100 g foi superior os citados por Rizzi *et al.* (2016) ( $160,4 \pm 0,2$  mg/100g) e Muller *et al.* (2018) ( $168,6 \pm 1,2$  g/100g). Para a *S. hispida* não foi encontrado registro do isolamento dos constituintes químicos, apenas a caracterização química dos extratos e a determinação de fenóis e flavonoides totais (RIZZI *et al.*, 2016; MULLER *et al.*, 2018).

Para outras espécies do Gênero, como exemplo para as partes aéreas de *Sebastiania schottiana* Muell. Arg. foi relatado a ocorrência de acetofenona (xantoxilina) (CALIXTO *et al.*, 1990; YUNES *et al.*, 1990), nas folhas de *Sebastiania brasiliensis* Spreng., Penna *et al.* (2001), isolaram os flavonóides quercetina, kaempferol e quercitrina e o ácido gálico, metilgalato e ácido protocatecuico, compostos fenólicos simples. Das partes aéreas e raízes de *S. schottiana* Muell. Arg. os terpenóides glutinol,  $\alpha$ - e  $\beta$ -amirina, moretenona, campesterol, estigmasterol e  $\beta$ -sitosterole (YUNES *et al.*, 1990; GAERTNER *et al.*, 1999; BRANCO; PIZZOLATTI, 2002). Das partes aéreas de *Sebastiania argutidens* Pax & Hoffm. Branco e Pizzolatti

(2002) determinaram os Hidrocarbonetos, carboxílicos ácidos, ésteres metílicos e triterpenos (lupeol, glutinol,  $\alpha$ - e  $\beta$ -amirina, olean-13 (18) - en-3-ol, moretenona). *Sebastiania corniculata* (Vahl) Muell. Arg., foi isolado das partes aéreas por Machado *et al.* (2005) os alcalóides quinolina. Para *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L.B. Sm. & B.J., foram isolados do extrato etanólico das partes aéreas, os flavonoides quercetina, kaempferol, isorhamnetina, isoquercitrina e os compostos fenólicos ácidos gallicin, gálico, síngeo e cafeico e a escopoletina, uma cumarina (HNATYSZYN *et al.*, 2007). Com base nestas informações e nos achados desse estudo (Figura 2) é possível constatar que as espécies do gênero *Sebastiania*, possuem uma diversidade de fitoconstituintes e que dentre os compostos mais frequentes estão os os compostos fenólicos e derivados como os flavonoides, esteroides e triterpenos e em se tratando da *S. hispida* a predominância de compostos fenólicos e flavonoides, uma fonte promissora para ser utilizada em formulações como as empregadas nos ensaios com os modelos experimentais.

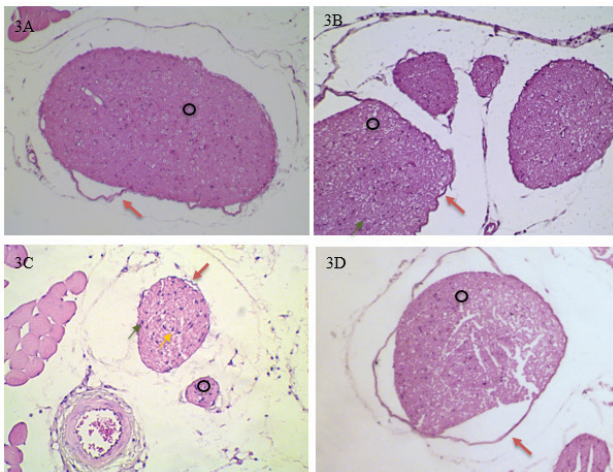
O índice de espuma foi  $<100$ , o que é considerado de baixa toxicidade e, também, encontrado por Rizzi *et al.* (2016), no extrato etanólico de *S. hispida* com efeito cicatrizante, com isto é possível inferir que o efeito cicatrizante da planta está associado ao sinergismo dos fitoconstituintes.

### 3.2 Cicatrização do Nervo Ciático

As análises morfológicas do nervo ciático dos animais no período de 7 dias após a lesão, no grupo G1 a morfologia do epineuro estava levemente separado do endoneuro por ação mecânica do esmagamento, já o perineuro e endoneuro apresentava aspecto normal (Figura 3A), entretanto, no grupo G2 houve descolamento do perineuro, presença de algumas células nervosas degeneradas com lesão no axônio e macrófagos (Figura 3B).

No grupo G3, foi verificada uma leve diminuição das fibras nervosas degeneradas em seu segmento axonal, assim como uma discreta recuperação das fibras nervosas, mas ainda com um leve descolamento do perineuro (Figura 3C). Observou-se no grupo G4 um aumento de fibras nervosas degeneradas, infiltrado inflamatório mononuclear, representado por macrófagos e, também, descolamento do perineuro (Figura 3D).

**Figura 3** - A a D. Fotomicrografias de corte transversal do segmento distal do nervo ciático de camundongos *Swiss* período 7 dias, grupo G1, coloração hematoxilina e eosina (HE). Axônio mielinizado (Círculo), Epineuro (Seta vermelha), Núcleo de possíveis células de Schwann (Seta amarela), Macrófago (Seta Verde). Aumento de 10x



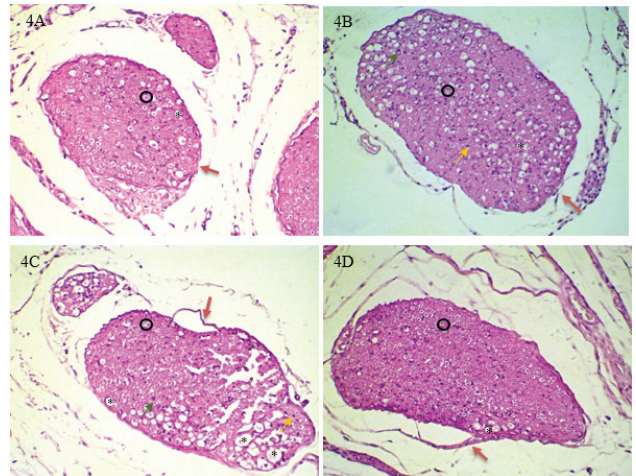
Fonte: Autores.

Esses achados indicam que o grupo de sete dias G3 (*S. hispidus*) obteve melhor efetividade terapêutica nas características cicatriciais em comparação com os grupos de sete dias G2 (Controle) e G4 (Gabapentina). Comparando com os tratamentos de neuropatia periférica à base de solução salina e extratos hidroalcoólico e aquoso de *Caesalpinia ferrea* que resultaram em grande aumento do espaço do endoneuro (FREITAS, 2013), enquanto os achados no tratamento utilizando extrato à base de *Sebastiania hispidus*, apresentaram menor descolamento do perineuro. Diante disso, é enfatizado que a *Sebastiania hispidus* beneficiou o processo cicatricial do nervo ciático pelos achados histológicos.

Com relação aos grupos eutanasiados de 14 dias, o grupo G1 revelou o aspecto morfológico normal, com seus envoltórios conjuntivos íntegros, epineuro, perineuro e endoneuro (Figura 4A). No grupo lesão G2, eutanasiados

no 14º dia, foram evidentes áreas com degeneração nervosa e manutenção da resposta inflamatória, com a presença de macrófagos e células gigantes multinucleadas (Figura 4B). No grupo G3 e G4, o perineuro estava deslocado do endoneuro, ainda por consequência do esmagamento mecânico das células nervosas, com presença de células degeneradas em menor proporção se comparado aos axônios do grupo G4, que apresentava maior quantidade de axônios com sua bainha íntegra.

**Figura 4** - A a D. Fotomicrografias de corte transversal do segmento distal do nervo ciático de camundongos *Swiss* período 14 dias, grupo G2, coloração hematoxilina e eosina (HE). Axônio mielinizado (Círculo), Células degeneradas (\*), Epineuro (Seta vermelha), Núcleo de possíveis células de Schwann (Seta amarela). Aumento de 10x



Fonte: os autores.

A presença de axônios mielinizados em maior proporção nos grupos G3 (*S. hispidus*) e G4 (Gabapentina) aos 14 dias apontam que ocorreu maior preservação dos axônios nesses grupos. Comparando o tratamento com extratos hidroalcoólico e aquoso de *Caesalpinia ferrea* Martius observou grande número de axônios preservados semelhante com o grupo Sham (FREITAS, 2013). Isso evidencia que o tratamento com a *S. hispidus* e a gabapentina apresentaram conservação dos axônios frente ao processo de neuropatia periférica. A ação neuroprotetora da planta está diretamente relacionada com seus componentes flavonoides e seus descritos mecanismos de antioxidação, proteção mitocondrial e regulação do metabolismo astrocitário (FERREIRA, 2016).

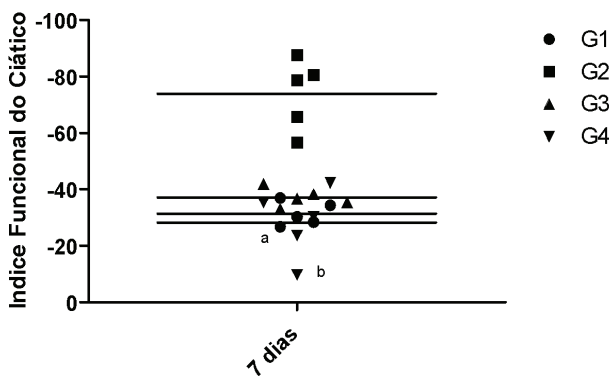
Os resultados histológicos obtidos do grupo de 14 dias tratados com a gabapentina estão de acordo com experimentos previamente realizados. Um estudo de neuropatia periférica tratada com 2mL/kg (p/v) de Gabapentina via gavagem durante cinco dias em ratos demonstrou uma elevação na expressão da proteína básica de mielina (CÂMARA, 2009). Tal resultado sugere que o tratamento da neuropatia pela gabapentina em concentração de 0,2mL de 12/12horas seja realizada em um maior período de tempo, em função de maior quantidade de axônios mielinizados no grupo de 14 dias, quando comparado ao grupo de 7 dias.

### 3.3 Teste Índice funcional do ciático (IFC)

A comparação intragrupos revelou significância de  $p=0,0230$ , tendo em vista que os grupos G1 ( $p=0,0266$ ) e G4 ( $p=0,0286$ ) no período experimental de 7 dias apresentou diferença significativa enquanto a comparação intragrupos do período de 14 dias que apresentou diferença significativa de  $p=0,0014$  e o grupo G4 mostrou diferença no período de 7 e 14 dias ( $p=0,0286$ ).

A lesão por compressão do nervo ciático (ENC), vem sendo amplamente utilizado nas ultimas décadas para avaliar a restauração da função motora, porém, estudos mais recentes enfatizam a dor neuropática causado por essa lesão (COBIANCHI *et al.*, 2013). O nervo lesionado, com o tempo e tratamento, tem sua função motora restaurada gradualmente (DING *et al.*, 2015).

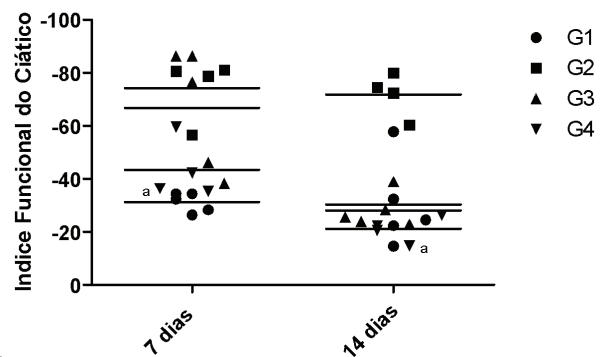
**Figura 5** - Comparação intergrupo do Índice funcional do ciático no momento avaliado para o grupo 7 dias (Kruskal-Wallis,  $p=0,0266$ , “a”  $p<0,05$  em relação ao G2; “b”  $p<0,05$   $p=p=0,0286$ , em relação ao G2)



Fonte: dados da pesquisa.

Com base nos dados apresentados pelo gráfico, o grupo tratado com a gabapentina mostrou uma variação significativa ( $p=0,0286$ ) no período de eutanásia de 7 e 14 dias (Figura 6) com valores variando entre -10 a -40, demonstrando uma melhor resposta funcional quando comparado ao grupo controle. Comparando os grupos de 7 e 14 dias, tratados com o extrato à base de *S. hispidam* não ocorreu diferença estatisticamente significativa, mas apresentaram baixas variações quando comparadas ao grupo controle, variando os valores de -20 a -40, em comparação aos grupos do período de 14 dias (Figura 6), que houve uma maior redução do Índice Funcional do Ciático, demonstrando a necessidade de um tempo maior de período experimental para a total recuperação funcional nervosa.

**Figura 6** - Comparação intergrupo do Índice funcional do ciático no momento avaliado para o grupo 14 dias (Tempo 01 e 02: Kruskal-Wallis,  $p=0,0286$ , “a”  $p<0,05$  em relação ao G2).



Fonte: autores.

Estudos recentes utilizando extrato etanólico de *Combretum leprosum* para tratamento da neuropatia periférica induzida por compressão do nervo ciático, em camundongos, constataram que o extrato (100mg/Kg) também foi capaz melhorar, significativamente, o déficit funcional (KRAUS *et al.*, 2017). Porém, estudos que utilizaram terapias alternativas, como a terapia por diodo emissor de luz (LEDT), podem não ser eficazes para uma total recuperação funcional do nervo conforme o ocorrido no trabalho (CIDRAL FILHO, 2011). Diante desses dados, sugere-se que o uso do extrato à base de *Sebastiania hispidam* mostrou bons resultados na regeneração da resposta funcional quando comparada ao grupo controle, sham e ao tratamento convencional à base de Gabapentina, principalmente, quando tratados no período de 14 dias. Esta ação neuroprotetora se deve às propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes presentes nos flavonoides, composto encontrado em alta concentração no extrato. Como demonstrado em estudos (ROCHA, 2015) em que o flavonoide quercetina demonstrou efeito protetor das células neuronais contra os danos oxidativos induzidos pelo estresse na Doença de Alzheimer.

### 3.4 Variação do peso dos animais

As comparações par a par foram realizadas utilizando-se o teste t de Student para amostras independentes ou teste de Mann-Whitney, conforme a normalidade das amostras. A dor tem influência direta no apetite dos camundongos, sendo o peso do animal, portanto, um importante parâmetro na avaliação da melhora dos sintomas da neuropatia periférica. O aumento de peso sugere a ausência de dor, e a diminuição do mesmo sugere a persistência da nocicepção (ANDRADE *et al.*, 2002). Com isso se observa perda ponderal nos grupos G1 e G3 em 7 dias. Aos 14 dias apenas o grupo G4 apresentou perda de peso (Quadro 1). Logo, o uso do Extrato reduziu a algia dos camundongos em 14 dias de tratamento, tendo melhor resultado que o grupo com tratamento convencional à base de gabapentina. No entanto, a perda de peso não foi estatisticamente significativa.



**Quadro 1** - Comparação dos pesos dos animais em gramas (teste t de Student; média±DP) no pré-operatório e no momento da eutanásia

	Pré-operatório	7 dias	p-valor		Pré-operatório	14 dias	p-valor
G1	44,6 ± 3,5	43,3 ± 3,4	0,5661		37,3 ± 2,5	38,7 ± 3,2	0,4550
G2	40,3 ± 1,1	43,7 ± 1,7	0,0050		36,7 ± 3,6	37,9 ± 4,0	0,6847
G3	44,0 ± 1,5	41,0 ± 1,2	0,0078		35,0 ± 2,2	36,0 ± 1,8	0,4671
G4	39,7 ± 2,4	43,4 ± 6,8	0,2851		38,3 ± 2,2	35,5 ± 1,6	0,0695

Fonte: dados da pesquisa.

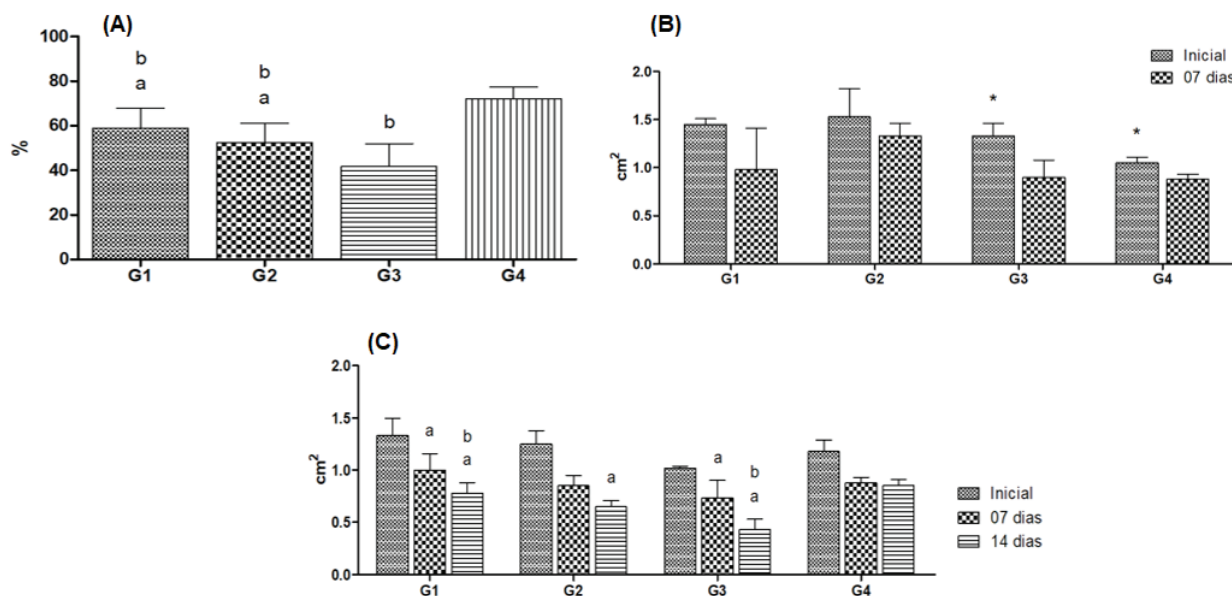
### 3.5 Teste de Regressão da Ferida

Quando observada a normalidade nos dados se optou pela comparação entre os grupos utilizando-se a Análise de Variância (ANOVA) com *post hoc test* de *Bonferroni*. Nos casos de ocorrência de distribuição não normal dos dados, utilizou-se o teste de *Friedman*. As comparações par a par foram realizadas utilizando-se o teste t de Student para amostras relacionadas. A normalidade foi avaliada através do teste de *Liliefors*. Consideraram-se significantes as

comparações com  $p < 0,05$ . A análise foi realizada no programa *GraphPad Prism 5.0*.

De acordo com a Figura 7 (A; B; C), é possível inferir que todos os grupos apresentaram taxas de regressão significativa aos 7 e 14 dias, além de que o uso do extrato de *S. hispida* mostrou efeito positivo na cicatrização em relação aos demais grupos, como demonstrado em trabalhos anteriores realizados por Rizzi *et al.* (2016) e Muller *et al.* (2018).

**Figura 7** - (A) Comparação intergrupos das regressões das feridas aos 14 dias de eutanásia (ANOVA,  $p = 0,0024$ , “a”  $p < 0,05$  em relação ao G3; “b”  $p < 0,05$  em relação ao G4). (B) Comparação intragrupos das regressões das feridas aos 7 dias de eutanásia (G1  $p = 0,0864$ ; G2  $p = 0,2522$ ; G3  $p = 0,0066$ ; G4  $p = 0,0060$ ). (C) Comparação intragrupos das regressões das feridas aos 14 dias de eutanásia (G1: ANOVA,  $p = 0,0021$ , “a”  $p < 0,05$  em relação à medida inicial, “b”  $p < 0,05$  em relação ao dia 7. G2: teste de *Friedman*,  $p = 0,0183$ , “a”  $p < 0,05$  em relação à medida inicial. G3: ANOVA,  $p = 0,0003$ , “a”  $p < 0,05$  em relação à medida inicial, “b”  $p < 0,05$  em relação ao dia 7. G4: teste de *Friedman*,  $p = 0,0468$ )



Fonte: dados da pesquisa.

Esse efeito positivo se deve pela presença dos constituintes presentes nas partes aéreas da planta, em especial aospolifenóis, os compostos fenólicos e flavonoides, classes estas que favorecem o processo de cicatrização, por meio do sequestro de radicais livres, atuação como vasodilatador e redução da agregação plaquetária (HAVSTEEN, 2002). O uso da gabapentina demonstrou o potencial cicatricial esperado no grupo de 7 dias, porém, no grupo de 14 dias houve pouca melhora da cicatrização. De maneira geral, é possível concluir que esta pesquisa apresentou resultados semelhantes ao de outros estudos, utilizando extratos herbais para acelerar o processo de cicatrização (JAIN *et al.*, 2011).

### 4 Conclusão

Conclui-se que o extrato à base de *Sebastiania hispida* apresentou boa eficácia na regeneração funcional do nervo ciático, embora insignificante do ponto de vista estatístico. Em relação aos achados histológicos foi evidenciado que o tratamento de 7 dias com o extrato da planta foi mais efetivo para evitar as degenerações das fibras nervosas do que o tratamento com gabapentina. No caso do tratamento feito durante 14 dias, foi demonstrado que em ambos ocorreu a preservação majoritária dos axônios, porém a gabapentina foi mais efetiva na conservação dos axônios mielinizados.



A ação neuroprotetora pode estar relacionada com os constituintes, que compõem o extrato etanólico das folhas e caules *S. hispida*, principalmente, pela presença dos polifenóis, flavonoides e compostos fenólicos.

### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia Desenvolvimento (CNPq). Ao Centro de Pesquisas do Pantanal (CPP), Nacional Instituto de Ciência e Tecnologia do Pantanal (INAU), Fundação de Apoio ao Desenvolvimento de Educação, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), e a Universidade Anhanguera-Uniderp pelo financiamento do Projeto de Bioprospecção de Plantas Mediciniais.

### Referências

AGNOLLITTO, P. M. *et al.* Sciatic neuropathy: findings on magnetic resonance neurography. *Radiol. Bras.*, v. 50, n. 3, p. 190-196, 2017. doi: 10.1590/0100-3984.2015.0205.

ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S. *Animais de Laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2006.

BRANCO, A.; PIZZOLATTI, M.G. CGAR E CGAR-EM na análise dos constituintes químicos isolados do extrato hexânico de *Sebastiania argutidens* (Euphorbiaceae). *Química Nova*, v.25, n.1, p.15-19, 2002. doi: 10.1590/S0100-40422002000100004.

BAPTISTA, A. F. *et al.* A new approach to assess function after sciatic nerve lesion in the mouse - adaptation of the sciatic static index. *J. Neurosc. Methods*, v.161, n.2, p.259-64, 2007. doi: 10.1016/j.jneumeth.2006.11.016.

BARON, R. Neuropathic pain: a clinical perspective. *Handbook Exp. Pharmacol.*, n.194, p.3-30, 2009. doi: 10.1007 / 978-3-540-79090-7\_1.

BARROS, F. *et al.* Ação Neutralizante dos extratos de *Byrsonima crassifolia* e *Sebastiania hispida* no tratamento das atividades botrópicas induzidas pelo veneno de *Bothrops moojeni* sp em camundongos, 2010. Disponível em: <https://repositorio.pgskroton.com/handle/123456789/381>.

BRUNING, M.C.R.; MOSSEGUI, G.B.G.; VIANNA, C.M.M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguazu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. *Ciênc. Saúde Coletiva*, v.17, n.10, 2012. doi: 10.1590/S1413-81232012001000017.

BUENO, N.R. *et al.* Medicinal plants used by the Kaiowá and Guarani indigenous populations in the Caarapó Reserve, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Acta Bot. Bras.*, v.19, n.1, p.39-44, 2005. doi: 10.1590/S0102-33062005000100005.

CALIXTO, J. B. *et al.* Action of 2-hydroxy-4,6-dimethoxyacetophenone isolated from *Sebastiania schottiana*. *Planta Med.*, v.56, n.1, p.31-35, 1990. doi: 10.1055/s-2006-960878.

CÂMARA, C.C. *Estudo dos efeitos antinociceptivos, comportamentais e regenerativos do tratamento com gabapentina em modelo experimental de dor neuropática*. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2009.

CARDOSO, E.L. *et al.* Composição e dinâmica da biomassa aérea após a queima em savana gramíneo-lenhosa no Pantanal. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.35, n.11, p.2309-2316, 2000. doi: 10.1590/S0100-204X2000001100025.

CIDRAL FILHO, F.J.C. *Terapia por diodo emissor de luz promove antihipersensibilidade, mas falha em acelerar regeneração nervosa após lesão do nervo ciático em camundongos*. 2011. Disponível em: <http://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/94872>.

COBIANCHI, S. *et al.* Efeitos diferenciais de tratamentos dependentes de atividade na regeneração axonal e dor neuropática após lesão do nervo periférico. *Experimental Neurol.*, v.240, p 157-167, 2013. doi: 10.1016 /j.expneurol. 2012.11.023.

CRISPIM, S.M.A. *et al.* Variação sazonal na frequência e composição botânica em área de máxima inundação, Pantanal-MS, Brasil. *Arc. Zootec.*, v.51, p.149-160, 2002.

DING, T. *et al.* Tissue engineering of nanosilver-embedded peripheral nerve scaffold to repair nerve defects under contamination conditions. *Int. J. Artificial Org.*, v.38, n.9, p.508-516, 2015. doi: 10.5301/ijao.5000439.

DISTAD, B. J.; WEISS, M. D. Clinical and electrodiagnostic features of sciatic neuropathies. *Phys. Med. Rehabil. Clin. North Am.*, v.24, p.107-120, 2013. doi: 10.1016 /j.pmr.2012.08.023.

FERREIRA, R. S. *Neuroprotective effect of flavonoid rutin in models of excitotoxicity induced by glutamate*. Salvador: Universidade Federal da Bahia, 2016.

FONSECA, P.R.B.; GATTO, B.E.O.; TONDATO, V.A. Neuropatia dolorosa pós-traumática e pós-operatória. *Rev. Dor*, v.17, supl. 1, 2016. doi: 10.5935/1806-0013.20160050.

FONTOURA, F. M. *et al.* Seasonal effects and antifungal activity from bark chemical constituents of *Sterculia apetala* (Malvaceae) at Pantanal of Miranda, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Acta Amaz.*, v.45, p.283-292, 2015. doi: 10.1590/1809-4392201500011.

FREITAS, M. O. *Efeitos regenerativos e analgésico dos extratos aquoso e hidroalcoólico de Caesalpinia ferrea Martius na neuropatia ciática experimental em ratos*. Mossoró: Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2013.

GAERTNER, M. *et al.* Analgesic triterpenes from *Sebastiania schottiana* roots. *Phytomedicine*, v.6, n.1, p.41- 44, 1999. doi:10.1016/S0944-7113(99)80033-6.

HAVSTEEN, B.H. *The biochemistry and medical significance of the flavonoids*. Pharmacology and Therapeutics, 2002.

HNATYSZYN, O. *et al.* Phytochemical analysis and antifungal evaluation of *Sebastiania commersoniana*. extracts. *Pharm. Biol.*, v.45, n.5, p.404-406, 2007. doi: 10.1080/13880200701215216.

IBGE. Mapa de biomas do Brasil. Escala 1:5.000.000. Rio de Janeiro: IBGE, 2004. Disponível em: <http://mapas.ibge.gov.br/biomas2/viewer.htm>. Acesso em: 01 out. 2019.

JAIN, N. *et al.* Practices in Wound Healing Studies of Plants. *Evidence-Based Complementary Alternative Med.*, v.11, p.1-17, 2011. doi: 10.1155/2011/438056.

KAPLAN, S. *et al.* Chapter 2: development of the peripheral nerve. *Int. Rev. Neurobiol.*, v.87, p.9-26, 2009. doi: 10.1016 /S0074-7742 (09) 87002-5.

KRAUS, S. I. *et al.* Potencial terapêutico do extrato etanólico de *Combretum leprosum* no modelo experimental de neuropatia periférica em camundongos. 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/182112>.

KRAUSE, L. H. *Farmacoterapia sistêmica da dor neuropática*. São Paulo: SBED, 2016.

LUNA, L. G. *Manual de métodos de coloração histológica do Instituto de Patologia das Forças Armadas*. Nova York: McGraw-Hill, 1968.

- MACHADO, D.D.N.M. *et al.* Quinoline alkaloids from *Sebastiania corniculata* (Euphorbiaceae). *Bioch. System. Ecol.*, v.33, n.5, p.555-558, 2005.
- MARTYN, C. N.; HUGHES, R. A. Epidemiology of peripheral neuropathy. *J. Neurol. Neurosurg. Psy.*, v.62, p.310-318, 1997.
- MATOS, F.J.A. *Introdução a fitoquímica experimental*. Fortaleza: Edições UFC, 2009.
- MEDAWAR, C.V.; MATHEUS, M.E. Antidepressivos tricíclicos e gabapentinóides: uma análise do perfil farmacológico no tratamento da dor neuropática. *Rev Bras. Farmacol.*, v.93, n.3, p.290-297, 2012.
- MERSKEY, H.; BOGDUK, N. *Classification of chronic pain*. Seattle: IASP Press, 1994.
- MONTE-RASO, V. V.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N. Índice funcional do ciático nas lesões por esmagamento do nervo ciático de ratos. Avaliação da reprodutibilidade do método entre examinadores. *Acta Ortop. Bras.*, v.14, n.3, 2006. doi: 10.1590/S1413-78522006000300003.
- MULLER, J.D.A.I. *et al.* The effect of *Sebastiania hispida* gel on wound model infected by methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Biom. Pharmac.*, v.105, p.1311-1317, 2018. doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.100.
- PEIXOTO, S.T.J.S. *et al.* Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. *Rev Bras. Ciênc. Farm.*, v.44, n.4, p.683-689, 2008. doi.org/10.1590/S1516-93322008000400015.
- PENNA, C. *et al.* Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. *J. Ethnopharmacol.*, v.77, n.1, p.37-40, 2001. doi:10.1016/S0378-8741(01)00266-5.
- POSSAMAI, F. *et al.* Repercussões morfológicas e funcionais do exercício sobre a regeneração nervosa periférica. *Fisioter. Mov.*, v.25, n.3, p.617-627, 2012. doi: 10.1590/S0103-51502012000300017.
- POTT, A.; POTT, V.J. *Plantas do Pantanal*. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994.
- RIFFEL, A.P.K. *et al.* Treatment with ascorbic acid and a-tocopherol modulates oxidative-stress markers in the spinal cord of rats with neuropathic pain. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v.51, n.4, p.1-11, 2018. doi:10.1590/1414-431x20177097.
- RIZZI, E.S. *et al.* Wound-Healing potential of *Sebastiania hispida* (Mart.) Pax (Euphorbiaceae) ointment compared to low power laser in rats. *Braz. J. Biol.*, v.77, n.3, p.480-489, 2016. doi:10.1590/1519-6984.16115.
- ROCHA, A.F.A. *Os flavonoides nas doenças neurodegenerativas*. Covilhã, 2015.
- SANTOS, C.F.; SOUZA, P.M.R. *Força-tarefa na dor em idosos*. São Paulo: Grupo Editorial Moreia Jr., 2011.
- SIMÕES, C. *et al.* *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Porto Alegre: UFRGS, 2017.
- SOUSA, C. M. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quím. Nova*, v.30, n.2, p.351-355, 2007. doi:10.1590/S0100-40422007000200021.
- SPOHR, T. C. L. S. *et al.* Effects of the flavonoid casticin from Brazilian *Croton betulaster* in cerebral cortical progenitors in vitro: direct and indirect action through astrocytes. *J. Neurosc. Res.*, v.88, n.3, p.530-541, 2010. doi:10.1002/jnr.22218.
- YUNES, R. A. *et al.* Triterpenes from *Sebastiania schottiana*. *Planta Médica*, v.56, n.2, p.242-243, 1990. doi:10.1055/s-2006-960942
- WOOLF, C. J. What is this thing called pain? *J. Clin. Invest.*, v.120, n.11, p.3742-3744, 2010. doi: 10.1172 / JCI45178.
- WHO - World Health Organization. *Transforming and scaling up health professionals' education and training: World Health Organization guidelines 2013*. Gebras: WHO, 2013.