

Efeitos sobre funções cognitivas, analgésicos e ansiolíticos de medicamentos homeopáticos e da 7-epiclusianona em um modelo experimental de camundongos *Swiss*

Luis F. C. dos Reis^{1a}, Alexsander G. R. Ribeiro^{1b}, Flávia S. I. França^{1c}, Cláudio Daniel Cerdeira^{2d*}, Marcelo H. dos Santos^{3e}, Marcos J. Marques^{1f}, Aline P. Castro^{1g}

¹Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), Departamento de Patologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas (ICB), Alfenas, MG, Brasil.

²Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), Departamento de Bioquímica (DBq), Instituto de Ciências Biomédicas (ICB), Alfenas, MG, Brasil.

³Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Química, Viçosa, MG, Brasil.

*Autor de correspondência: daniel.cerdeira.84@gmail.com,    

Correios electronicos:

^aluis.cunha7697@gmail.com, ^balexsanderrr1@gmail.com, ^cflaviasifranca@gmail.com,

^ddaniel.cerdeira.84@gmail.com, ^emarceloh.santos@ufv.br, ^fmarcos.marques@unifal-mg.edu.br,

^galine.castro@unifal-mg.edu.br

Recebido: 21 de abril de 2022

Revisado: 6 de fevereiro de 2023

Aceto: 13 de fevereiro de 2023

RESUMO

Contextualização: o consumo exacerbado de analgésicos e ansiolíticos vêm se tornando uma grande preocupação mundial e, no Brasil, isso não é diferente, constituindo um sério problema de saúde pública. **Objetivos:** este estudo testou dois complexos homeopáticos e um produto natural para as atividades analgésica, ansiolítica, e sobre as funções cognitivas. **Metodologia:** foram utilizados 40 camundongos *Swiss*, recebendo dieta padrão e água *ad libitum*, igualmente divididos em 5 grupos: i. Grupo do Complexo Homeopático (H1), cuja constituição e potências são, *Ignathia amara* L. 6CH, *Phosphorus* 6CH, *Aconitum napelus* L. 6CH, *Valeriana officinalis* L. 6CH e *Gelsemium sempervirens* L. 6 CH; ii. Grupo do Complexo Homeopático (H2), cuja constituição e potências são, *Arnica montana* L. 6CH,

Rhus toxicodendrum L. 6CH, *Atropa belladonna* L. 6CH, *Aconitum napelus* L. 6CH, *Symphytum officinale* L. 6CH e *Hypericum perforatum* 6CH; iii. Grupo da 7-epiclusianona (7-EPI) (150mg/kg, 60 min antes); iv. Grupo da Indometacina (GI, 10mg/kg, 60 min antes); e v. Grupo Controle (GC, placebo -salina). Os tratamentos com os complexos homeopáticos foram feitos por 14 dias. Os seguintes testes foram realizados: Teste de *Hot Plate* (efeito analgésico); Teste de Campo Aberto (efeito ansiolítico); Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO) Novo (capacidade cognitiva), sendo todos filmados, e analisados estatisticamente. **Resultados:** houve um significativo efeito em grooming entre os grupos H1, H2 e 7-EPI, comparados ao GC ($p < 0,05$), demonstrando seus efeitos ansiolíticos, e um significativo efeito no tempo de latência entre os grupos H2, 7-EPI e GI ($p < 0,05$), comparados ao GC, demonstrando analgesia. As substâncias testadas não demonstraram ter significativo efeito no teste de exploração do objeto novo, portanto não interferindo na capacidade cognitiva dos camundongos. **Conclusão:** houve consideráveis efeitos analgésico (H1, H2 e 7-EPI) e ansiolítico (H2 e 7-EPI), sendo que tais compostos positivamente não interferiram na função cognitiva dos camundongos.

Palavras-chave: Analgesia, ansiolíticos, complexos homeopáticos, 7-epi, capacidade cognitiva.

SUMMARY

Effects of homeopathic medicines and 7-epiclusianone on cognitive, analgesic and anxiolytic functions in an experimental *Swiss* mice model

Background: the exacerbated consumption of analgesics and anxiolytics has become a major concern worldwide and, in Brazil, this is no different, constituting a serious public health problem. **Objectives:** this study tested two homeopathic complexes and a natural product for analgesic, anxiolytic, and cognitive functions. **Methodology:** 40 *Swiss* mice were used, receiving standard diet and water *ad libitum*, equally divided into 5 groups: i. Homeopathic Complex Group (H1), whose constitution and potencies are, *Ignathia amara* L. 6CH, Phosphorus 6CH, *Aconitum napelus* L. 6CH, *Valeriana officinalis* L. 6CH e *Gelsemium sempervirens* L. 6CH; ii. Group of the Homeopathic Complex (H2), whose constitution and potencies are, *Arnica montana* L. 6CH, *Rhus toxicodendrum* L. 6CH, *Atropa belladonna* L. 6CH, *Aconitum napelus* L. 6CH, *Symphytum officinale* L. 6CH e *Hypericum perforatum* 6CH; iii. 7-epiclusianone (7-EPI) group (150mg/kg, 60 min before); iv.

Indomethacin Group (IG, 10mg/kg, 60 min before); and v. Control Group (CG, placebo -saline). Treatments with homeopathic complexes were carried out for 14 days. The following tests were performed: *Hot Plate Test* (analgesic effect); Open Field Test (anxiolytic effect); Novel Object Recognition (NOR) task (cognitive ability), all being filmed and statistically analyzed. **Results:** there was a significant effect on grooming between groups H1, H2 and 7-EPI, compared to CG ($p < 0.05$), demonstrating its anxiolytic effects, and a significant effect on latency time between groups H2, 7-EPI and IG ($p < 0.05$), compared to CG, demonstrating analgesia. The substances tested did not demonstrate a significant effect in the exploration test of the new object, therefore not interfering with the cognitive ability of the mice. **Conclusion:** there were considerable analgesic (H1, H2 and 7-EPI) and anxiolytic (H2 and 7-EPI) effects, and these compounds, positively, did not interfere with the cognitive function of mice.

Keywords: Analgesia, anxiolytics, homeopathic complexes, 7-epi, cognitive capacity.

RESUMEN

Efectos sobre las funciones cognitivas, analgésicas y ansiolíticas de los medicamentos homeopáticos y la 7-epiclusianona en un modelo experimental de ratón *Swiss*

Fundamento: el consumo exacerbado de analgésicos y ansiolíticos se ha convertido en una gran preocupación a nivel mundial y, en Brasil, esto no es diferente, constituyendo un grave problema de salud pública. **Objetivos:** este estudio probó dos complejos homeopáticos y un producto natural para funciones analgésicas, ansiolíticas y cognitivas. **Metodología:** se utilizaron 40 ratones *Swiss*, recibiendo dieta estándar y agua *ad libitum*, igualmente divididos en 5 grupos: i. Grupo Complejo Homeopático (H1), cuya constitución y potencias son, *Ignathia amara* L. 6CH, Phosphorus 6CH, *Aconitum napelus* L. 6CH, *Valeriana officinalis* L. 6CH e *Gelsemium sempervirens* L. 6CH; ii. Grupo del Complejo Homeopático (H2), cuya constitución y potencias son *Arnica montana* L. 6CH, *Rhus toxicodendrum* L. 6CH, *Atropa belladonna* L. 6CH, *Aconitum napelus* L. 6CH, *Symphytum officinale* L. 6CH e *Hypericum perforatum* 6CH; iii. Grupo 7-epiclusianona (7-EPI) (150 mg/kg, 60 min antes); iv. Grupo Indometacina (GI, 10 mg/kg, 60 min antes); y v. Grupo Control (GC, placebo-solución salina). Se realizaron tratamientos con complejos homeopáticos durante 14 días. Se realizaron las siguientes pruebas: Prueba de placa caliente (efecto analgésico); Prueba de campo abierto (efecto ansiolítico); Nuevo

Test de Reconocimiento de Objetos (capacidad cognitiva), todo ello filmado y analizado estadísticamente. **Resultados:** hubo un efecto significativo sobre el aseo entre los grupos H1, H2 y 7-EPI, en comparación con GC ($p < 0,05$), demostrando sus efectos ansiolíticos, y un efecto significativo sobre el tiempo de latencia entre los grupos H2, 7-EPI y GI ($p < 0,05$), en comparación con GC, demostrando analgesia. Las sustancias probadas no demostraron un efecto significativo en la prueba de exploración del nuevo objeto, por lo que no interfirieron con la capacidad cognitiva de los ratones. **Conclusión:** hubo considerables efectos analgésicos (H1, H2 y 7-EPI) y ansiolíticos (H2 y 7-EPI), y estos compuestos no interfirieron positivamente con la función cognitiva de los ratones.

Palabra clave: Analgesia, ansiolíticos, complejos homeopáticos, 7-epi, habilidad cognitiva.

INTRODUÇÃO

Os analgésicos têm seu papel no tratamento das dores agudas e crônicas, contudo, é sabido que, mundialmente, há um consumo abusivo desses medicamentos [1]. Ainda há poucos dados na literatura brasileira que demonstrem o perfil de analgésicos consumidos pelo país, porém alguns estudos ilustram o excesso no uso desta classe terapêutica e de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES). Dipirona, paracetamol e AINES estão entre os fármacos mais utilizados [2-5].

O uso abusivo e prolongado de analgésicos é um dos fatores que desencadeiam a dor crônica, pois há alívio da dor sem obtenção da cura. Com o tempo, a utilização contínua pode se tornar um vício, principalmente quando se trata de opioides [1, 3]. Isso é capaz de gerar tolerância, síndrome de abstinência e dependência nos usuários. Os AINES, podem causar disfunções cerebrovasculares, renais, hepáticas, cardiovasculares, trombóticas, gastrintestinais, gestacionais e fetais, elevando o índice de morbimortalidade [6].

Semelhante ao que ocorre com os analgésicos, os ansiolíticos também geram grande preocupação em relação a utilização excessiva, uma vez que o uso abusivo também pode resultar na manifestação de efeitos adversos graves bem como dependência química dos pacientes [7, 8]. Os representantes mais comuns dos ansiolíticos são os benzodiazepínicos, os quais fazem parte dos principais protocolos de tratamento da ansiedade [9]. O abuso na utilização de ansiolíticos tem causa multifatorial. Pode ser por automedicação, erros de prescrição, dependência ou até mesmo aumento da enfermidade que gera a necessidade do uso desses medicamentos [10].

Também muito comum na sociedade moderna, temos o consumo cada vez mais popular de medicamentos fitoterápicos e homeopáticos. Desse modo, vem surgindo um grande interesse na obtenção de novas substâncias com características naturais e que apresentem eficácia quando o assunto é novos medicamentos para promover analgesia e efeitos anti-ansiedade, com destaque para os fitoterápicos, os medicamentos homeopáticos e as substâncias isoladas de produtos naturais. Neste sentido, a biodiversidade brasileira constitui uma enorme variedade a ser explorada na busca de substâncias com potencial farmacológico, incluindo as espécies vegetais, entre estas, algumas das que estão presentes nos complexos homeopáticos avaliados no presente estudo, os Complexos Homeopático 1 (H1) e o 2 (H2) (tabela 1). Assim, esse estudo procurou evidenciar o efeito analgésico e ansiolítico da 7-epiclusianona (7-EPI), substância extraída e isolada de *Garcinia brasiliensis*, e de dois complexos homeopáticos, o Complexo Homeopático 1 (H1) e o Complexo Homeopático 2 (H2).

MATERIAIS E MÉTODOS

Aspectos éticos

Todos os experimentos envolvendo animais foram conduzidos de acordo com as recomendações do *National Institutes of Health* [36]. O estudo foi aprovado pela comissão de ética no uso de animais da UNIFAL-MG (CEUA/UNIFAL-MG), parecer número 0003/2021.

Este estudo não envolve qualquer espécie vegetal ameaçada de extinção e/ou protegida e nenhuma permissão específica foi requerida quanto ao uso do material vegetal.

Preparo das amostras testadas

Complexo Homeopático

Os complexos homeopáticos foram obtidos da farmácia de manipulação “Musgo”, localizada no sul de MG. O critério de escolha para montagem dos complexos homeopáticos foi por essas substâncias possuírem estudos de patogênese e uso clínico atual. A constituição de cada complexo homeopático é apresentada na tabela 2.

7-Epiclusianona (7-EPI)

Para obtenção da 7-EPI (IUPAC, 3-benzoil-4-hidroxi-6,6-dimetil-1,5,7-tris(3-metil-but-2-en-1-il)biciclo[3.3.1]non-3-ene-2,9-diona) foi usado o epicarpo das sementes dos frutos de *G. brasiliensis*. Os frutos de *G. brasiliensis* foram coletados na região de Viçosa, Minas Gerais, Brasil (latitude 20° 45' 14” sul e longitude 42° 52' 55” oeste). A identificação botânica foi realizada por um perito em botânica, no horto botânico da

Tabela 1. Produtos vegetais presentes nos homeopáticos avaliados e fonte de 7-EPI.

Planta	Nome popular	Principais usos/indicações	Principais bioativos	Refs
<i>Garcinia brasiliensis</i>	Bacupari, bacuparê e bacupari miúdo	Indicações da planta englobam o tratamento de problemas de pele, intestino e controle do metabolismo de lipídios e perda de peso 7-EPI isolada de: Presentes no Complexo Homeopático H1:	É uma benzofenona natural poliprenilada, e foi primeiramente isolada dos frutos de <i>Rbreedia brasiliensis</i>	[11, 12]
<i>Ignatbia amara</i> L.	Fava de Santo Inácio	É um policrosto, podendo ser usado apenas na formulação homeopática, a qual é utilizado no tratamento de transtornos do humor como depressão, ansiedade, estresse e até em casos de insônia	Sementes são ricas em tóxicos/venenos como a estricnina e a brucina, dois alcaloides que possuem ação excitatória sobre o SN. Os efeitos tóxicos também estão relacionados a essas duas substâncias.	[13, 14]
<i>Aconitum napelus</i> L. ^a	Acônito, Casca de Júpiter, Capuz de Frade	Tratamento de indivíduos com pavor/ transtorno de pânico, angústia indefinível e medo terrível da morte	Alcaloides aconitina, sendo estes de ação tóxica, além de conter picro-aconitina, napelina, e ácido aconítico	[15-17]
<i>Valeriana officinalis</i> L.	valeriana-selvagem, e valeriana-silvestre	Os extratos de <i>V. officinalis</i> exibe um amplo espectro de atividades farmacológicas com ação antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatório, sedativo, anti-reumático, ansiolítico, tranquilizante, antiespasmódicos, anticonvulsivantes e neuroprotetora	No óleo essencial são encontrados mais de 150 constituintes, como monoterpenos, sesquiterpenos e ácidos carboxílicos, além de aminoácidos, alcaloides (chantinina, valerina, pirrolcetona), flavonoides (linarina, metilapigenina) e linhanos (hidroxipinoresinol). Exibe ação sinérgica, devido a três princípios ativos: Valepotriatos com efeito estabilizante sobre os centros vegetativos e emocionais, restaurando o equilíbrio autônomo-fisiológico; Sesquiterpenos, que inibem a GABA transaminase, aumentando os níveis de GABA no SNC; e Lignanas, um agonista parcial dos receptores de adenosina subtipo A1, responsáveis por induzirem sedação	[18, 19]

(Continua)

Planta	Nome popular	Principais usos/indicações	Principais bioativos	Refs
<i>Gelsemium sempervirens</i> L.	Jasmim amarelo e Jasmim da Carolina	Empregado na homeopatia e fitoterapia como relaxante do SN, no tratamento de dores e enfermidades, além de ser útil no tratamento de inquietação, irritabilidade, insônia, dor de cabeça e convulsões. Estudos demonstram seu efeito ansiolítico ao utilizar baixíssimas doses em medicamentos homeopáticos, com ação sedativa e sobre a pressão arterial, no tratamento de infecções bacterianas	Contém o princípio ativo gelsemina, juntamente com outros relacionados à estricnina, como a sempervirina, sendo os alcaloídes, os principais fitoconstituintes	[20-22]
Presentes no Complexo Homeopático H2:				
<i>Arnica montana</i> L.	Arnica, arnica vulgar, arnica da montanha, arnica do mato, arnica do campo e erva lanceta	Considerada como perigosa pelo FDA, devido a toxicidade, mas utilizada em medicamentos homeopáticos, com propriedades analgésicas, anti-inflamatórias, antimicrobiana, antiparasitária, antirreumática e anti-hemorragica, tratamento da epilepsia e tontura	Flavonoídes, ácidos fenólicos, óleos essenciais e terpenos, com ação farmacológica relacionada com a presença de lactonas sesquiterpênicas (helanalina e dihidro-helanalina), as quais promovem inibição de NF-KB	[23, 24]
<i>Rhus toxicodendrum</i> L.	Carvalho venenoso	Em geral, é venenosa, mas usada moderadamente em homeopatia em tintura mãe, obtida com suas folhas verdes, para pacientes com inquietude, ansiedade de consciência e que chora facilmente	Ácido tânico, ácido toxicodendríco, óleos voláteis e resinas	[25-28]

(Continua)

Planta	Nome popular	Principais usos/indicações	Principais bioativos	Refs
<i>Atropa belladonna</i> L.	Cereja-da-loucura, beladona, beladama	Correção da bradicardia provocada por drogas colinérgicas. Apesar de muito tóxica, na forma homeopática, menos tóxica, tem ação antimicrobiana (<i>Streptococcus pyogenes</i>); além de propriedades analgésicas, anti-inflamatórias, neurofarmacológica, anticolinérgica e acaricidas	Entre os princípios ativos tóxicos, estão os alcaloides tropânicos (atropina e escopolamina). A atropina presente na Belladona provoca o bloqueio vagal muscarínico M1 e M2	[29-32]
<i>Symphytum officinale</i> L.	Confrei ou consolda	A medicação homeopática é a única forma permitida na administração via oral do confrei, uma vez que se utiliza pequenas doses da substância, preparada em altas diluições e dinamizada. Indicada no tratamento de consolidação de fraturas e doenças ósseas	Tóxica devido aos alcaloides. Indicação terapêutica é baseada na presença de alantoina, taninos e mucilagens, sendo estes mais concentrados nas raízes	[33]
<i>Hypericum perforatum</i> L.	Hipérico, orelha de gato, alecrim bravo, arruda de São Paulo, arruda do campo, Erva de São João	Tratamento e prevenção de diversas doenças devido aos seus efeitos neuroprotetores, atividades antioxidante, antifúngica, ansiolítica, antiviral, cicatrizante, antitumoral e anti-inflamatória, destaque no tratamento de depressão unipolar leve e moderada	Possui compostos biologicamente ativos que atuam como Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (ISRS), um exemplo é a hiperforina	[34, 35]

*Também presente no Complexo Homeopático H2; Observação: muitas das plantas e/ou seus bioativos apresentados são tóxicas/venenosas, podendo ser usadas apenas em codições específicas nas formulações homeopáticas preparadas por um profissional farmacêutico. SN: sistema nervoso; SNC: sistema nervoso central

Universidade Federal de Viçosa. A espécie encontra-se catalogada pela exsicata sob o número VIC2604, depositada no herbário da referida Universidade.

Os epicarpós dos frutos de *G. brasiliensis* foram secos em estufa com circulação de ar a uma temperatura de 40 °C durante 8 dias com monitoramento de perda de água. Após a secagem completa, o material foi pulverizado em moinho de facas, fornecendo 1000 g e submetido à extração por remacerção em 1000 mL de etanol absoluto a temperatura ambiente. Foram filtrados e secos usando um rotavapor à pressão reduzida. Esse procedimento foi repetido por 5 vezes.

Para isolar a 7-EPI o extrato etanólico do epicarpo de *G. brasiliensis* foi cromatografado em colunas de sílica gel (CC) (230-400 mesh) (8 × 100 cm) e eluída com misturas de polaridade crescente de hexano/acetato de etila e acetato de etila/etanol sendo as frações concentradas em rotavapor à pressão reduzida. Estas frações foram reunidas em grupos de acordo com suas semelhanças após a análise por cromatografia em camada fina (TLC). Quando necessário, foram recromatografadas e, ou recristalizadas em metanol para obtenção do composto puro, cujos padrões foram usados para sua identificação além dos dados espectrais [11, 37]. A pureza da 7-EPI (99%) foi determinada (Shimadzu UFLC 20), usando uma coluna NST (Nano Separation Technologies) C18-154605 (150 × 4,6 mm; 5,0 µm de tamanho de partícula). A fase móvel foi constituída de uma mistura de solução de ácido acético 5 mmol/L (eluyente A) e metanol/ ácido acético 0,1% v/v (eluyente B). O volume de injeção foi de 20,0 µL e fluxo de 1,0 mL/min. Durante os 10 minutos iniciais a análise foi realizada com 50,0% de B, em seguida a concentração de B aumentou linearmente até 100,0% em 20 min e seguiu 100,0% de B até 30 min. Depois a concentração de B foi retomada à inicial para preparar a coluna para a próxima análise. Os cromatogramas foram obtidos em 254 nm e seus picos foram comparados com padrões previamente isolados no laboratório.

Indometacina

A Indometacina foi obtida da SM Empreendedorismo farmacêutico – LTDA, Alfenas-MG.

Ensaio com os animais

Desenho experimental

Foram utilizados 40 camundongos machos, da espécie *Swiss*, pesando em média 25 g com 8 semanas de idade, aclimatados conforme descrito na literatura [38] e, mantidos com dieta padrão e água *ad libitum*, para testar o efeito analgésico, ansiolítico e a influência na capacidade cognitiva das substâncias em questão. Cada camundongo passou apenas uma vez pelos teste de Campo aberto, *Hot plate*, e Teste/tarefa de reco-

nhecimento de objetos (TRO), para se evitar viéses de repetição, sendo feita a seguinte divisão dos camundongos em grupo conforme mostrados na tabela 2.

Tabela 2. Grupos experimentais

Grupo	Descrição	Administração/dose/rota/período	Animais (n)
GC	Grupo controle – placebo	Água administrada durante 2 semanas	8
GI	Grupo controle – Indometacina	Administração de indometacina, por gavagem, 10 mg/kg em solução de carboximetilcelulose (q.s.p. 1%), 60 min antes dos testes.	8
7-EPI	Grupo tratado - 7-epiclusianona	Administração de 7- EPI, 150 mg/kg em solução de carboximetilcelulose (q.s.p. 1%), por gavagem, 60 min antes dos testes.	8
H1	Grupo tratado – complexo homeopático H1	Administração diária durante 2 semanas, junto a água de consumo ¹ , do complexo Homeopático (H1): <i>Ignathia amara</i> L. 6CH ² , Phosphorus 6CH, <i>Aconitum napelus</i> L. 6CH, <i>Valeriana officinalis</i> L. 6Ch e <i>Gelsemium sempervirens</i> L. 6 CH.	8
H2	Grupo tratado – complexo homeopático H2	Administração diária durante 2 semanas, junto a água de consumo, do complexo Homeopático (H2): <i>Arnica montana</i> L. 6CH, <i>Rhus toxicodendrum</i> L. 6CH, <i>Atropa belladonna</i> L. 6CH, <i>Aconitum napelus</i> L. 6CH, <i>Symphytum officinale</i> L. 6CH e <i>Hypericum perforatum</i> 6CH.	8

Nota: ¹ Suspensão/solução: 60 gotas/L, o consumo pelos grupos foi monitorado e registrado diariamente (informado na seção **Resultados**). ²CH (diluição centesimal Hahnemanniana) indicam as potencias.

Avaliação dos compostos em promover analgesia, e efeitos ansiolíticos e sobre a cognição dos camundongos

Teste do Campo Aberto

Para este teste, os camundongos foram testados separadamente, ou seja, um por vez, em um campo aberto com dimensões de 40 × 40 × 50 cm, e quadrantes com dimensão 5 × 5 cm. O experimento foi realizado após às 17 horas, em um ambiente com luz e ruídos controlados. Cada experimento foi gravado pelo experimentador utilizando uma câmera digital, colocada de modo em que não estivesse no campo de visão dos camundongos. Cada animal foi testado durante 5 minutos, e através das filmagens, que se inicia com o animal no centro da área determinada, foi possível analisar o número de quadrantes percorridos por minuto, quantidade de movimentos verticais bipodais

(Rearing), autolimpeza (Grooming) e tempo de permanência na área central, para a determinação das atividades locomotora e exploratória [38].

Teste da placa quente (Hot Plate)

Para avaliação da nocicepção utilizou-se o teste *Hot Plate* com algumas modificações [39]. Os camundongos foram retidos, um por vez, na superfície aquecida de um bquer de 1000 mL, com temperatura mantida a 50-52 °C. O teste foi gravado por uma câmera digital, e posteriormente os vídeos foram analisados, observando o tempo de latência para o comportamento de dor, caracterizado como os primeiros sinais de desconforto, em que se pode ter a lambida das patas, levantamento da pata traseira, ou pelo movimento de tremores vigorosos “shaking” em uma destas patas [40].

Teste/tarefa de reconhecimento de objetos (TRO) novo para investigação de aprendizagem e memória em camundongos

O teste foi realizado em três sessões: uma sessão de habituação, uma sessão de treinamento e outra de teste. Foram utilizadas peças de LEGO, para realização do teste. Cada animal foi habituado na arena do teste durante 5 minutos e em seguida, ao ambiente de realização do teste, durante 2 horas. Logo após, foi realizada a etapa de treinamento, no qual os animais foram colocados na arena do campo aberto durante 5 minutos. Após 24 horas, foi realizada a sessão teste, na qual um dos objetos idênticos foi removido e substituído no mesmo local por outro objeto (objeto novo), possuindo as mesmas dimensões, mas com forma e cor diferente. Nenhuma pista visual foi encorajada na sala experimental a ser usada como referência espacial, a sala estava vazia ao máximo possível para a execução do teste, incluindo ausência de fita sobre a parede do aparato, nem objetos deliberadamente colocados ao seu redor [41].

O experimento foi filmado através de uma câmera digital, de modo que o observador e o equipamento, não ficassem no campo de visão dos camundongos. Para análise, a exploração do objeto foi definida como cheirar ou tocar o objeto com o nariz e/ou as patas dianteira. Andar em torno do objeto não foi considerado comportamento exploratório [42]. O tempo de exploração foi expresso em percentual do total de tempo de exploração computado em segundos, permitindo determinar a razão de discriminação a partir da proporção de tempo de exploração do objeto novo em relação ao objeto familiar. O reconhecimento de objeto foi distinguido pelo animal em passar mais tempo explorando o objeto novo, indicado pelo valor do índice de discriminação maior que 0,5.

Análise dos dados

Após constatação de normalidade dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk, procedeu-se a análise de variância (ANOVA) seguida de teste para comparação múltipla de médias

(Tukey), com médias sendo consideradas estatisticamente diferentes e significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Primeiramente, os consumos dos complexos homeopáticos H1 e H2 foram monitorados, sendo no grupo H1, 3,14 mL/10 g e, no grupo H2, 3,18 mL/10 g. Não houve diferença estatística significativa entre estes grupos.

Atividade ansiolítica – testes do campo aberto

O parâmetro *grooming* (figura 1) apresentou efeito estatístico significativo ($p < 0,05$) entre os grupos H1, H2 e 7-EPI, quando comparados com o grupo Controle. Além disso, houve ainda diferença significativa entre os grupos H1 e H2 em relação a Indometacina. No entanto, as variáveis tempo de centro, *rearing* e número de quadrantes (figura 1: A, B, C e D, respectivamente) não apresentaram efeito significativo entre os grupos analisados (H1, H2, 7-EPI e Indometacina) quando comparados com o grupo Controle.

Atividade analgésica (antinociceptiva)–Hot plate

O parâmetro tempo de latência (figura 2) apresentou resultado estatisticamente significativo ($p < 0,05$) entre os grupos H2, 7-EPI e Indometacina, quando comparados com o grupo Controle.

Efeito sobre a cognição-TRO novo

Não houve efeito significativo no tempo de exploração do objeto novo entre os grupos analisados (H1, H2, 7-EPI, e Indometacina) quando comparados com o grupo Controle (figura 3, A). A relação entre o tempo de interação com o objeto familiar e o novo também não apresentou diferença entre os grupos analisados (figura 3, B).

DISCUSSÃO

No presente estudo, a influência de duas formulações homeopáticas (H1 e H2) e do composto natural isolado 7-EPI foi investigada quanto aos possíveis efeitos analgésico, ansiolítico e sobre a função cognitiva em camundongos. Em virtude do amplo uso na sociedade atual, nós avaliamos algumas formulações homeopáticas. Proposta em 1796 pelo médico alemão Cristiano Frederico Samuel Hahnemann, a homeopatia foi introduzida no Brasil em 1840 através do médico francês Benoit Jules Mures. Ao contrário da medicina alopática que se baseia na cura pelo contrário, a homeopatia, atua curando pelo princípio da similitude e os medicamentos homeopáticos são cons-

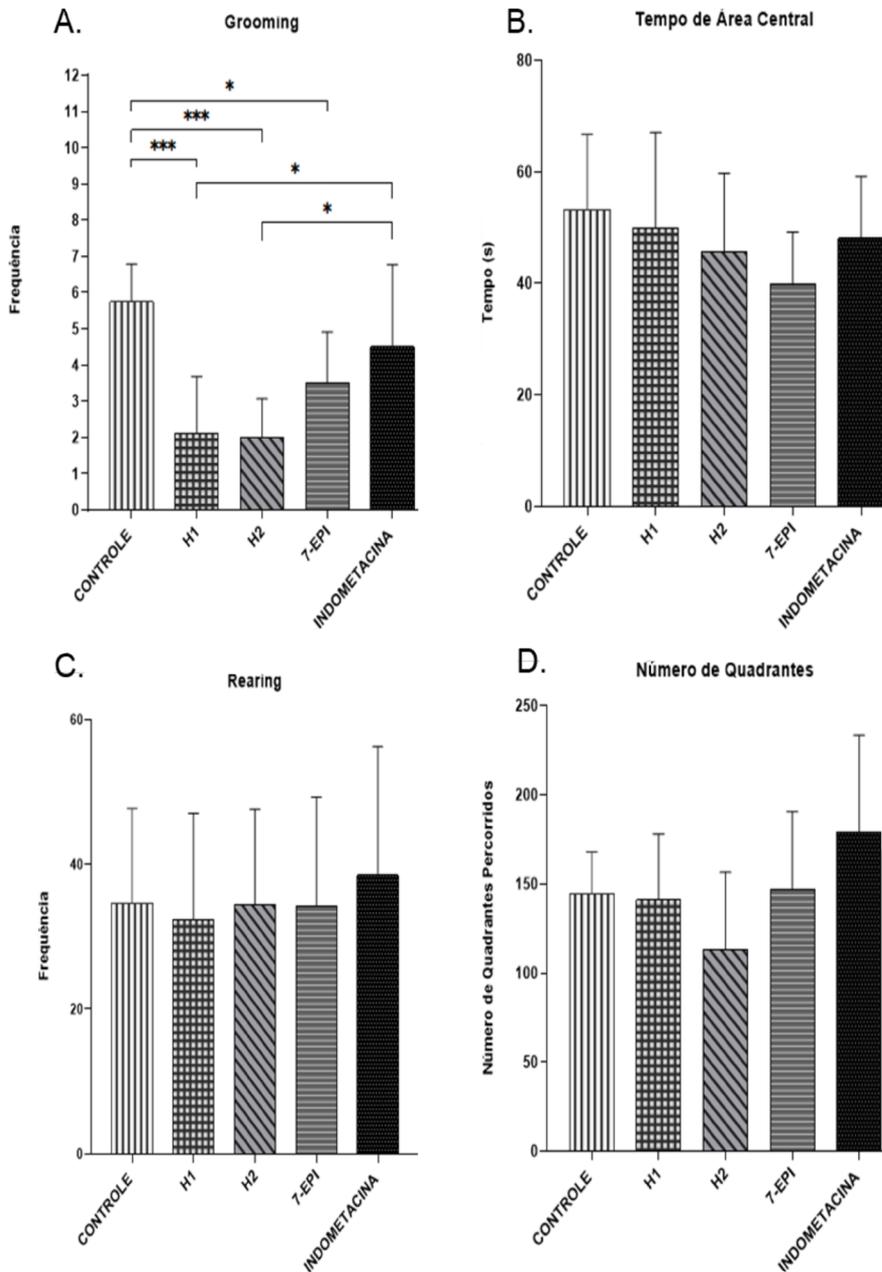


Figura 1. Efeitos dos complexos homeopáticos e 7-EPI sobre o comportamento locomotor e exploratório (ansiedade) em camundongos. Nota: A, B, C e D: Parâmetros analisados no Campo Aberto. (A) Frequência de Grooming; (B) Tempo de permanência na Área Central; (C) Frequência de Rearing e (D) Número de Quadrantes percorridos.

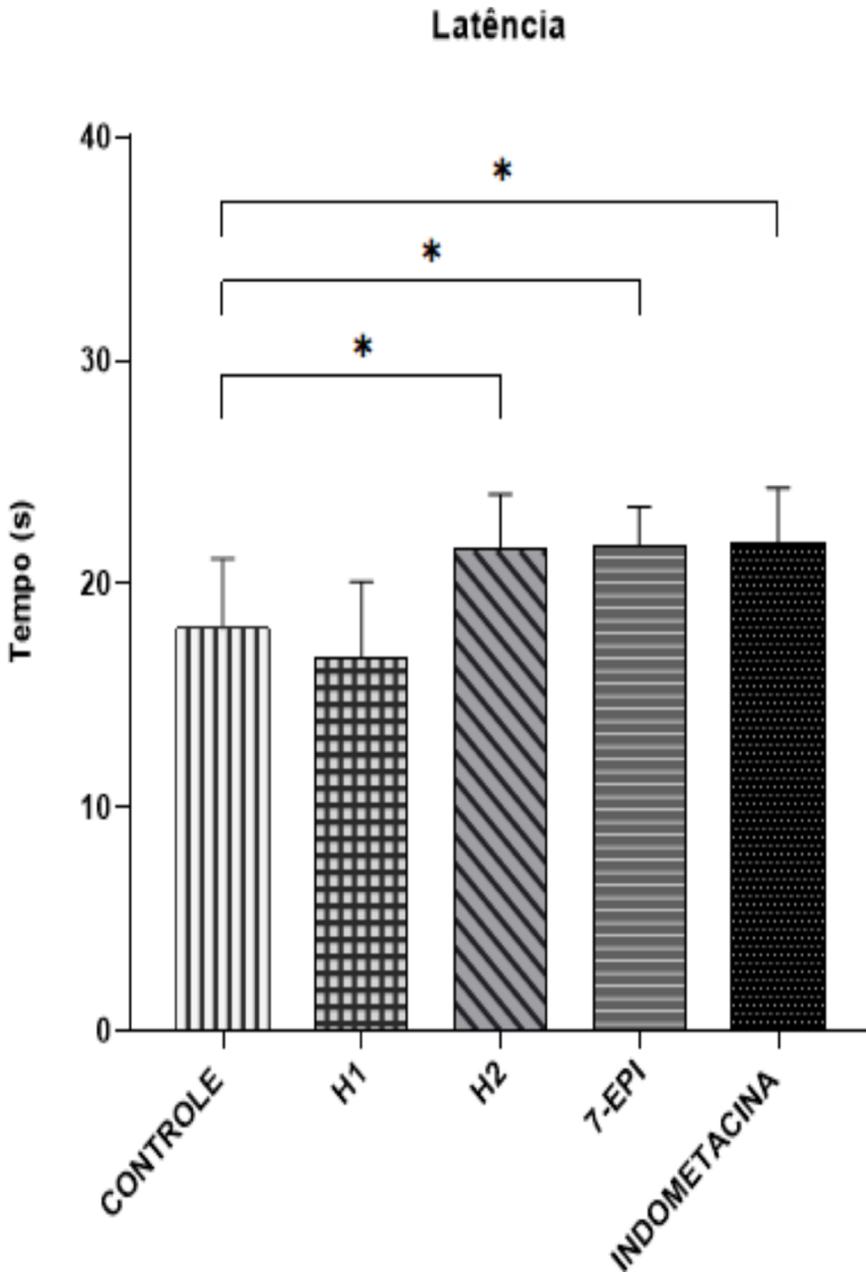


Figura 2. Efeitos dos complexos homeopáticos e 7-EPI sobre a resposta a dor (ansiedade) em camundongos. Nota: Tempo de Latência para retirada da pata no teste *Hot Plate*.

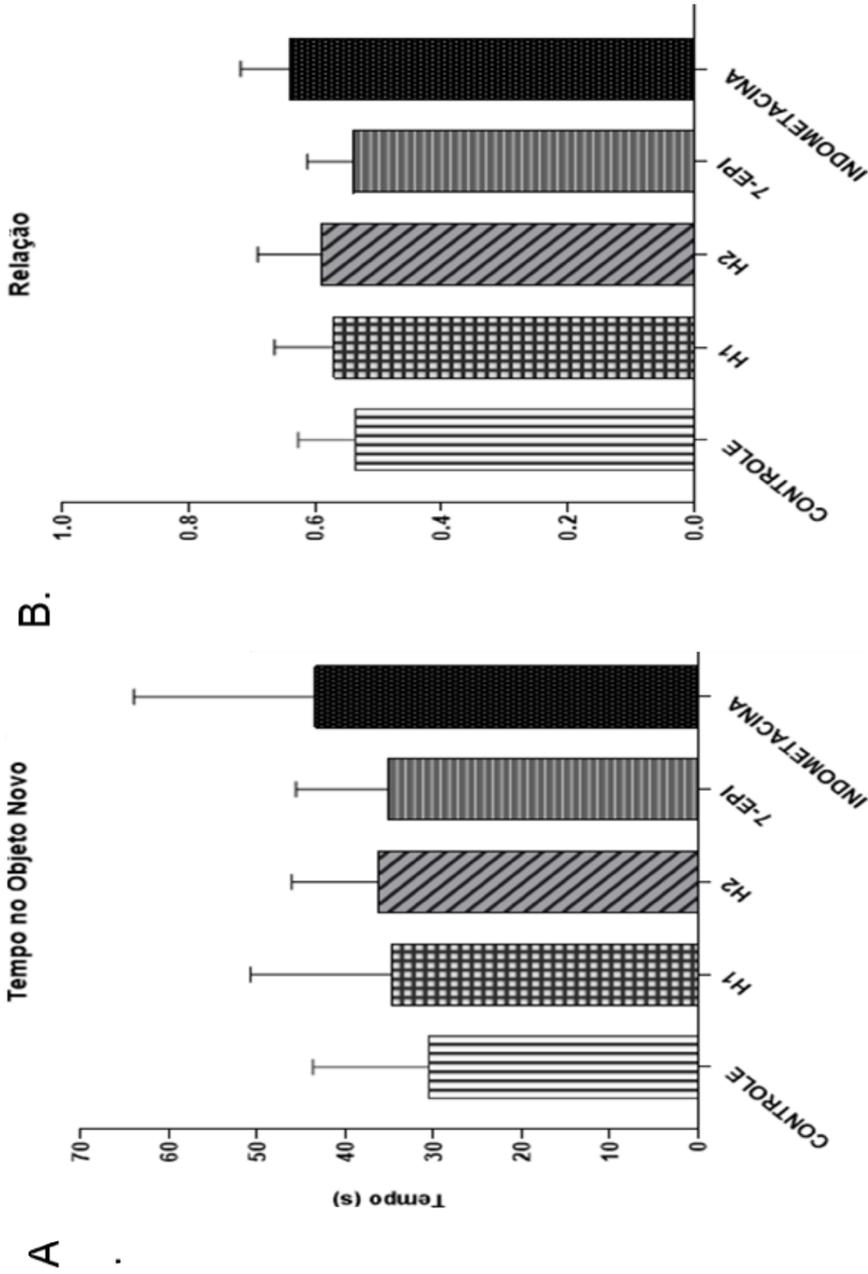


Figura 3. Efeitos dos complexos homeopáticos e 7-EPI sobre a cognição de camundongos. **Nota:** Parâmetros Tempo que os camundongos passaram explorando o objeto novo (A) e Relação entre o tempo de interação com o objeto familiar e o novo (B).

tituídos de doses bem diluídas, por isso muitos cientistas acreditam que a homeopatia viola as leis naturais, logo, os efeitos observados equivalem a um efeito placebo [43].

O teste do Campo Aberto é amplamente utilizado para avaliação da atividade locomotora espontânea e fornece informações sobre o estado de emocionalidade dos roedores [44]. Os parâmetros analisados neste estudo foram: Grooming, tempo de permanência no centro, número de rearing/levantamentos e número de cruzamentos. O grooming é uma atividade característica de autolimpeza, que os animais realizam, principalmente, para higienização da superfície corporal [45]. Desse modo, pode aumentar quando o animal se apresenta tranquilo [46]. Contudo, esse comportamento é sensível aos níveis de estresse e, a exposição à novidade, como por exemplo, introdução a um ambiente novo, aumenta a frequência de grooming [47], por isso não pode ser utilizado isoladamente como indicativo de ansiedade [46]. Aqui, o parâmetro grooming (figura 1 A) gerou resultados estatisticamente significativos dos grupos H1, H2 e 7-EPI quando comparados com o grupo Controle. Os animais do grupo Controle (GC) apresentaram frequência maior na realização de grooming em relação aos outros grupos analisados. Ao observar a figura 1, é possível notar que os grupos H1 e H2 realizaram o grooming menos vezes que os demais, indicando possível efeito ansiolítico dessas substâncias. Houve ainda diferença significativa entre os grupos H1 e H2 em relação ao grupo Indometacina, o qual apresentou frequência de grooming próxima ao do grupo Controle. No grupo tratado com 7-EPI, apesar de apresentar valores maiores que H1 e H2, quando comparada com o grupo Controle, obteve resultado significativo, o que sugere também diminuição da ansiedade e medo durante o tempo de exposição na arena do CA.

Um outro parâmetro avaliado em testes de ansiedade é o tigmotatismo, um comportamento manifestado por ratos e camundongos, no qual a movimentação desses animais se dá perto das paredes do ambiente a que foram submetidos. No CA, eles preferencialmente, passam a maior parte do tempo do teste na periferia da arena [45]. Os animais tendem a evitar os quadrantes da parte central, pois o centro do CA é considerado um local de exposição [48]. O tempo que os camundongos passam no centro da arena em relação ao tempo de periferia, durante a realização do teste, é classificado como uma medida de ansiedade e medo [46]. Não só o tempo na região central, mas o número de vezes que eles entram na área central também pode ser utilizado para mensuração da ansiedade [48]. Não foram observados resultados estatísticos significativos no tempo de centro entre os grupos quando comparados com o grupo Controle (figura 1 B). Era esperado que esse parâmetro tivesse o mesmo padrão de resposta obtida no grooming, porém as médias obtidas no tempo que o animal permaneceu no centro foram muito próximas entre os grupos.

O rearing é um comportamento exploratório gerado pela novidade de um ambiente [49]. Consiste na quantidade de elevação das patas dianteiras sem tocar as paredes do CA [50]. Além da influência ambiental, fatores como idade e genética também podem interferir na expressão desse comportamento [48]. No presente estudo, o número de rearing não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados (figura 1 C), sugerindo que não houve alteração na atividade locomotora após administração das substâncias. Apesar dos resultados não se apresentarem significativos, a análise desse parâmetro é indispensável para avaliação da ansiedade dos camundongos, uma vez que ele se relaciona com a tomada de decisão. Quanto maior a frequência de tentativas, maior é a indecisão do animal, o que reflete em um nível maior de ansiedade [49]. Alguns autores sugerem que o rearing tem a função de ampliar e atualizar informações sobre o ambiente durante a exploração. Além disso, esse comportamento exploratório também é importante na procura de alimentos, proteção contra predadores e busca de acasalamento, sendo considerado como um mecanismo de sobrevivência e adaptação dos animais [48].

Outro parâmetro que avalia a atividade locomotora dos roedores é o número de quadrantes que eles atravessam durante a realização do teste [46]. É considerado como uma medida de exploração e emocionalidade. A frequência de cruzamentos pode ser relacionada inversamente com o estado de ansiedade e medo do animal, ou seja, quanto menos cruzamentos, maior é o medo e ansiedade apresentada por ele. Logo, os animais mais ansiosos tendem a explorar menos o CA [45]. Mais uma vez não houve diferença significativa entre os grupos analisados quando comparados com o grupo Controle em relação ao número de cruzamento das marcações do CA (figura 1 D). Isso sugere que não houve prejuízo na atividade locomotora, mesmo após a administração dos medicamentos. Além da influência na atividade locomotora e exploratória dos camundongos no Campo Aberto, a redução no número de cruzamentos pode detectar efeito sedativo relacionado a administração de altas doses de certas substâncias [51]. Apesar de haver muitos estudos que definem a distância percorrida no CA como um comportamento de exploração ambiental, alguns autores questionam essa classificação e apontam que o animal pode estar, por exemplo, tentando escapar do ambiente novo ou procurando comida, ao invés de estar explorando [48].

O teste *Hot Plate* é utilizado para medir analgesia através do tempo em que os camundongos conseguem ficar sem demonstrar sinais de dor, que é evidenciada pela nocicepção térmica manifestada pelo reflexo de retirada da pata [52]. Ao analisar os testes de *Hot Plate*, foi possível notar resultados significativos ao comparar o tempo que os camundongos ficaram sem realizar o movimento de retirada de pata (figura 2). Aqueles animais que receberam o Complexo Homeopático 2, 7-EPI, e a Indometacina, permaneceram mais tempo sem reagir a dor, quando comparados ao tempo dos animais

do grupo Controle, sugerindo que estas substâncias apresentam atividade analgésica *in vivo*. Por outro lado, o grupo do Complexo Homeopático 1 não demonstrou ter tal atividade, uma vez que este grupo teve uma média de tempo muito próxima do grupo controle, e diferença significativa dos demais grupos. O resultado do teste para a Indometacina (controle), já era esperado, uma vez que a mesma possui, comprovadamente, potente atividade analgésica e anti- inflamatória, inibindo a transmissão nociceptiva, além da prevenção do edema e da inflamação [53], sendo frequentemente utilizada no tratamento de dor, artrites, distúrbios musculoesqueléticos agudos, lombalgias, etc. [54]. Assim, a mesma foi testada neste estudo, como um controle positivo, no intuito de comparar os resultados dos outros compostos com sua atividade. O que tornou os resultados ainda mais complementares, uma vez que a média de tempo dos grupos H2 e 7-EPI é muito próxima ao tempo dos animais do grupo da Indometacina, com a média de tempo de 21,51; 21,71 e 21,86; respectivamente, demonstrando ter níveis de atividades semelhantes.

O TRO Novo para investigação de aprendizagem e memória foi realizado com intuito de analisar se essas substâncias influenciam na capacidade de aprendizagem, uma vez que alguns ansiolíticos, como os benzodiazepínicos, podem induzir a prejuízos persistentes nas funções cognitivas, e psicomotoras, mesmo em baixas doses [55], levando a diminuição da atenção que, conseqüentemente, pode aumentar o risco de acidentes com automóveis, prejuízos na memória e desinibição paradoxal. O TRO, foi originalmente descrito por Ennaceur e Delacour em 1988, é um ensaio comportamental relativamente rápido, eficiente, e simples, utilizado para avaliar o aprendizado e a memória de ratos e camundongos [56]. Quando roedores são apresentados a objetos familiares e novos, naturalmente eles passam maior porção do tempo explorando o novo objeto, através deste típico comportamento é possível realizar uma avaliação comportamental [42], com intuito de investigar aspectos de aprendizagem e memória. A partir dos resultados, foi observado que a média do índice de discriminação foi maior que 0,5 para todos os grupos analisados, inclusive o Controle, indicando que os camundongos passaram a maior parte do tempo de exploração no objeto novo (figura 3). Isso demonstra que, de modo geral, os animais testados foram capazes de reconhecer o objeto familiar através de sua memória [57].

Entretanto, existem variáveis que podem influenciar os resultados do TRO, como por exemplo, o estado de tensão dos camundongos, que afeta não só no tempo de exploração, mas também no intervalo de retenção (período de retenção de informação que ocorre logo após o treinamento, e os animais são postos novamente em sua gaiola). Algumas espécies de camundongos possuem naturalmente níveis mais elevados de ansiedade, o que também poderia potencialmente impactar na atividade locomotora e/ou tempo de exploração, e uma vez que este é diminuído, pode distorcer ou mascarar

os resultados em uma análise de discriminação absoluta [56]. Dessa forma, é plausível sugerir que o teste seja refeito, aumentando o número de exposições ou a duração da exposição à arena antes do treinamento, a fim de auxiliar a diminuir a ansiedade e encorajar a exploração. Não foi considerado que os camundongos sentiram ansiedade ou estresse causados por um estressor na sala de habitação, uma vez que na mesma não havia ruídos, odores significantes, ou temperaturas extremas. Outro fator de influência envolve a escolha dos objetos, que podem simplesmente ter gerado desinteresse dos camundongos, assim é importante avaliar cuidadosamente os objetos usados no ensaio, podendo ser previamente testados antes da realização de um novo experimento, com intuito de se descartar qualquer preferência de objeto [56].

Com relação a escolha dos complexos homeopáticos e 7-EPI, nós levamos em conta o uso popular dos constituintes (produtos naturais/plantas) dos complexos homeopáticos e da planta que origina a 7-EPI, a *G. brasiliensis*. Tais plantas e seus bioativos são amplamente descritos na literaturas (tabela 2), apesar de que quando em associação em complexo homeopáticos seus reais papéis passam a ser complexos e pouco conhecidos, não se descartando o efeito sinérgico ou outros tipos de interações (inclusive, antagonismo). A escolha dos compostos do Complexo Homeopático 2, foi feita propositalmente com o intuito de testar sua atividade analgésica, assim todos os componentes que a constitui possui na literatura atividade analgésica ou anti- inflamatória, sendo já utilizados na homeopatia no auxílio de dores e processos inflamatórios. Contudo, não foram encontrados na literatura outros estudos que analisassem sua atividade *in vivo*.

A 7-EPI demonstrou, no presente estudo, ter atividade analgésica, assim como em um prévio trabalho [11], em que a 7-EPI diminuiu o tempo de lambadura causado por uma injeção sub plantar de formalina. Além disso o teste da placa quente produziu um aumento significativo na reação de latência, demonstrando um efeito antinociceptivo”, confirmando o uso tradicional desta espécie para tratamento de dores e inflamações. O teste da placa quente mostra a resposta do animal frente a um estímulo térmico que é associado à neurotransmissão central, além de medir uma resposta complexa a um nociceptivo agudo e não inflamatório [58], por consequência é um teste muito sensível aos analgésicos que atuam em nível central. Nesse teste, o estímulo térmico ativo os nociceptores (fibras C não mielinizadas) que transmitem a informação para regiões específicas no SNC produzindo uma resposta nociceptiva organizada [59]. Assim, ao comparar os resultados com um prévio estudo [11], que afirma a atividade da 7-EPI no SNC, através dos resultados obtidos no teste da placa quente, é possível confirmar que a 7-EPI atua pelo menos no sistema nervoso central, esta substância também pode ter atividade antinociceptiva periférica, contudo é necessário realizar outros testes para identificá-la, e também para investigar seu mecanismo de atuação a nível molecular e sua participação nos mecanismos inibidores da dor do SNC.

Como limitações deste estudo, a utilização de apenas 8 animais para cada grupo, pode ter colaborado para alguns resultados não significantes, uma vez que é recomendado que os grupos tenham 15-20 animais a fim de se obter resultados mais fidedignos [56]. Contudo, pode se citar que estes são testes relativamente simples, rápido, fácil e pouco estressante aos camundongos, o que pode ser útil em estudos preliminares e de triagens, como um primeiro passo robusto na identificação de mudanças cognitivas ou uma ferramenta primária para análise de analgesia e efeitos ansiolíticos [56].

CONCLUSÃO

Em um modelo experimental de camundongos *Swiss*, houve consideráveis efeitos analgésico (H1, H2 e 7-EPI) e ansiolítico (H2 e 7-EPI) para os complexos homeopáticos testados (H1 e H2) e o composto natural isolado 7-EPI, sendo que tais compostos positivamente não interferiram na função cognitiva dos camundongos, não havendo influência significativa no TRO, o que permite afirmar que as substâncias não interferiram na capacidade de aprendizado dos camundongos. Contudo, seria importante, novos estudos explorando outras metodologias para constatar tais achados, e cabe ressaltar a complexidade na composição destes complexos homeopáticos, o que dificulta o entendimento do exato mecanismo de ação durante as bioatividades propiciadas pelos princípios ativos vegetais.

Contribuições dos autores:

Participou do preparo do material vegetal/isolamento 7-EPI e/ou parte experimental: LFCR, AGRR, FSIF, MHS; Participou das análises dos dados e escrita do manuscrito na sua forma final: CDC; Participou da elaboração e orientação do trabalho: MJM, APC.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores não relatam nenhum conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

1. N.B. Vale, Analgesia adjuvante e alternativa, *Revista Brasileira de Anestesiologia*, Campinas, **56**, 530-555 (2006).
2. G.A.M. Barros, M.A.M. Calonego, R.F. Mendes, *et al.*, Uso de analgésicos e o risco da automedicação em amostra de população urbana: estudo transversal, *Revista Brasileira de Anestesiologia*, **69**, 529-536 (2019).

3. Conselho Federal de Farmácia (CFF), *Uso prolongado de analgésicos traz riscos à saúde*, 2016. [CrossRef].
4. V.M. Borges, F. Moura, C.D. Cerdeira, *et al.*, Uso de medicamentos entre gestantes de um município no sul de Minas Gerais, Brasil, *Infarma*, **30**, 30-43 (2018).
5. C.D. Pinto, N. de Oliveira, R.B.V. Silva, C.D. Cerdeira, *et al.*, Automedicação entre estudantes de enfermagem em uma universidade privada no sul de Minas Gerais, *Research, Society and Development*, **10**, e25210817129 (2021).
6. J. M. Silva, P.P. Mendonça, A.K. Partata, Anti-inflamatórios não- esteroides e suas propriedades, *Revista Científica do ITPAC*, **7**, 5 (2014).
7. D.S.S. Azevedo, E.P. Lima, A.A. Assunção, Fatores associados ao uso de medicamentos ansiolíticos entre bombeiros militares, *Revista Brasileira de Epidemiologia*, **22**, E190021 (2019).
8. C.K. Ferraresso, F. Neves, L.E.F. Campos, L.D.M. Vieira, M.P.M. Pereira, C.D. Cerdeira, *et al.*, Assessment of anxiety disorders and use of drugs among academics of medicine at a university in the south of Minas Gerais, Brazil, *Uningá Review Journal*, **36**, eURJ3975 (2021).
9. E.F. Carvalho, *Perfil de dispensação e estratégias para uso racional de psicotrópicos*, 45f. Monografia (Linhas de Cuidado em Enfermagem), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.
10. V.R. Fávero, M.O. Sato, R.M. Santiago, Uso de ansiolíticos: abuso ou necessidade? *Visão Acadêmica*, **18**, 98-106 (2017).
11. F.V. Santa Cecília, L.A.S. Freitas, F.C. Vilela, C.d.C. Veloso, C.Q da Rocha, M.E.C. Moreira, D.F. Dias, A. Giusti-Paiva, M.H. dos Santos, Antinociceptive and anti-inflammatory properties of 7- epiclusianone, a prenylated benzophenone from *Garcinia brasiliensis*, *European Journal of Pharmacology*, **670**, 280-285, (2011).
12. M.H. Santos, T.J. Nagen, T.T. Oliveira, *et al.*, 7-Epiclusianona, a nova benzofenona tetraprenilada e outros constituintes químicos dos frutos de *Rheedia gardneriana*, *Química Nova*, **22**, 654-660 (1999).
13. S. Hahnemann, *Matéria Médica Pura*, EHB, São Paulo, 1998.
14. G. Jurj, Loganíaceas: Da toxicologia ao repertório, *Revista de Homeopatia*, **71**, 14-24 (2008).

15. L.F. Filippesen, J.L. Moletta, A.P. Minho, *et al.*, *Aconitum napellus* no pré-abate e seu efeito na qualidade da carne bovina. *Revista de Homeopatia*, **74**, 104 (2011).
16. G.A. Shimizu, Transtorno do pânico: Tratamento homeopático e descrição de caso clínico, *Revista Científica Eletrônica de Psicologia*, **2**, 1-6 (2004).
17. S.O. Wakabara, *Aconitum Nepellus* “é um ciclone de curta duração”, Associação Brasileira de Reciclagem e Assistência em Homeopatia, 2005. [CrossRef]
18. S. Golçalves, A.P. Martins, *Valeriana officinalis*, *Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde*, **3**, 209-222 (2005).
19. M.L.P. Pinheiro, *Avaliação dos efeitos da Valeriana officinalis L no controle da ansiedade em pacientes submetidos a exodontias de terceiros molares mandibulares inclusos*, Dissertação (mestrado em odontologia), Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2003, 67 p.
20. D. Olioso, M. Marzotto, E. Moratti, *et al.*, Effects of *Gelsemium sempervirens* L. on pathway-focused gene expression profiling in neuronal cells, *Journal of Ethnopharmacology*, **153**, 535-539 (2014).
21. V. Dutt, S. Thakur, V.J. Dhar, *et al.*, The genus *Gelsemium*: An update, *Pharmacognosy Reviews*, **4**, 185-194 (2010).
22. T.A. Passeti, A.J. Manzoni, L.G. Ambrozino, *et al.*, Ação dos medicamentos homeopáticos *Arnica montana*, *Gelsemium sempervirens*, *Belladonna*, *Mercurius solubillis* e nosódio sobre o crescimento *in vitro* da bactéria *Streptococcus pyogenes*, *Revista de Homeopatia*, **77**, 1-9 (2014).
23. A. K. Schoaba, *Uso de Fitoterapia: Matricaria recutia e Arnica montana no tratamento da dor causadas por inflamação*, Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia), Faculdade de Educação e Meio Ambiente, Ariquemes, 2018, 36 p.
24. J. Waizel-Bucay, M.L. Cruz-Juarez, *Arnica montana* L., planta medicinal europea con relevancia, *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, **5**, 98-109 (2014).
25. I.S. Lima, *Uso da homeopatia nas principais afecções cutâneas causadas por estafilococos: uma revisão*, Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), Associação Paulista de Homeopatia, São Paulo, 2017, 78 p.
26. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), *Farmacopeia Brasileira*, 2ª Ed., Brasília, 2019.

27. C.C. Aparicio, C. Carvalho, Redução da incidência da miopatia de esforço (síndrome da rabdomiólise por esforço – SRE) em equídeos na romaria de franco da rocha a aparecida com o uso de *Rhus toxicodendron* 12CH: relato de caso, *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*, **16**, 71-72 (2018).
28. M.L.H. de Mello, *Rhus toxicodendron*, Associação brasileira de reciclagem e assistência em homeopatia, 2010. [CrossRef]
29. C.E. Fernández, *Toxicidad de plantas medicinales: Hyosciamus niger, Atropa beladonna. Recuperacion de uso, perspectiva terapêutica y toxicológica*, Trabajo fin de grado, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, 2016, 19 p.
30. J.J.F. Lima, As plantas na história da dor, *Revista da Sociedade Portuguesa de Anestesiologia*, **22**, 126-133 (2013).
31. D.G. Barg, *Plantas tóxicas*, Trabalho em Metodologia Científica no Curso de Fitoterapia no IBEHE/FACIS, Faculdade de Ciência da Saúde de São Paulo, São Paulo, 2004, 24 p.
32. N.B. Vale, A farmacobotânica, ainda tem lugar na moderna anestesiologia? *Revista Brasileira de Anestesiologia*, **52**(3), 368-380 (2002).
33. A.P. de Lima, *Efeito do Symphytum officinale L. (confrei) fitoterápico e homeopático na reparação óssea em tíbias de ratos*, Tese (Doutorado em Odontologia), Programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José dos Campos, 2012.
34. A.C.S. Alves, D.C Moraes, G.B.L. De Freitas, *et al.*, Aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e terapêuticos do *Hypericum perforatum* L., *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, **16**, 593-606 (2014).
35. A. Nunes, Utilização da planta Erva-de-são-joão (*Hypericum perforatum* L.) no tratamento de depressão, *Visão Acadêmica*, **19**, 80-93 (2018).
36. National Institutes of Health [NIH], *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, The National Academy Press, Washington DC, 2011, [PubMed].
37. V.S. Gontijo, T.C. de Souza, I.A. Rosa, *et al.*, Isolation and evaluation of the antioxidant activity of phenolic constituents of the *Garcinia brasiliensis* epicarp, *Food Chemistry*, **132**, 1230-1235 (2012).

38. S.N.P. Lima, C.D. Cerdeira, G.B. Santos, *et al.*, Tempol modulates the leukocyte response to inflammatory stimuli and attenuates endotoxin-induced sickness behaviour in mice, *Archives of Physiology and Biochemistry*, **126**, 341-347 (2018).
39. N.B. Eddy, D. Leimbach, Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **107**, 385-393 (1953).
40. M. Rezaee-As, M. Sabour, V. Nikoui, *et al.*, The study of analgesic effects of *Leonurus cardiaca* L. in mice by formal, tail flick and *hot plate* tests, *International Scholarly Research Notices*, **2014**, 687697 (2014).
41. J.C. Szczepanik, *Efeito do metilglioxal sobre o sistema nervoso: Uma investigação neuroquímica e comportamental em camundongos*, Tese (Doutorado em neurociências), Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.
42. J.G.P. Cruz, D.D. Dal Magro, J.N. da Cruz, *et al.*, Efeitos da administração aguda de etanol sobre a aprendizagem no reconhecimento de objetos em camundongos nadadores, *Revista Eletrônica de Farmácia*, **6**, 123-138 (2009).
43. C. Vanzela, R.M. Bitencourt, Homeopatia: terapia alternativa ou efeito placebo?, *Revista Unoesc & Ciência - ACBS Joaçaba*, **8**, 59-66 (2017).
44. I.L. Cavalcante, *Avaliação comportamental não clínica do metileugenol em modelo de depressão induzida por dexametasona com fêmeas*, 90f. Dissertação (Mestrado em Neurociência Cognitiva e Comportamento), Programa de Pós-Graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018, 90 p.
45. B.G.O. Monte, *QLTs Associados com Emocionalidade em Fêmeas Pós- Parto de Camundongos LG/J x SM/J*, Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução), Programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011, 88 p.
46. D.P. Laureano, *Avaliação do Impacto da Manipulação Neonatal no Comportamento de Ratas Ovariectomizadas*, Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Enfermagem), Escola de Enfermagem, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010, 49 p.
47. T.S. Campoli, *Papel do Núcleo Dorsal da Rafe sobre o Comportamento de Grooming Induzido por Novidade em Ratos*, Dissertação (Mestrado em Análise do

- Comportamento), Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019, 43 p.
48. R. Alves, *Estudo Comportamental, Farmacológico, Bioquímico e Hormonal em Subgrupos de Ratos Selecionados pelo Comportamento de Empinar no Teste do Campo Aberto*, Tese (Doutorado em Ciências), Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo (2009), 209 p.
 49. T.C. Goes, F.D. Antunes, T.H. Almeida-Souza, *et al.*, Comportamento de ratos Wistar no paradigma da exploração livre, *Revista Scientia Plena*, **9**, 124901 (2014).
 50. R.W. Camargo, *Avaliação do p-Cimeno em um Modelo Experimental de Autismos Induzido por Lipopolissacarídeo em ratos Wistar*, Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, 2019, 94 p.
 51. S.F. Fortes, *Investigação dos Efeitos Interativos de NAC e Diazepam em Modelos de Ansiedade em Camundongos*, Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina), Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016, 59 p.
 52. J. Cabral-Silva, Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais, *Revista Brasileira de Farmácia*, **94**, 18-23 (2013).
 53. E.K.F. Batista, Atividades antinociceptiva e antiinflamatória do extrato etanólico de *Luehea divaricata*, *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, **18**, 433-441 (2016).
 54. F.F. Santos, Avaliação toxicológica de indometacina incorporada à sílica mesoporosa, *18o Congresso Nacional de Iniciação Científica*, Universidade Paulista, SEMESP, 2018, 7 p.
 55. C. Gorenstein, M.A. Bernik, S. Pompéia, *et al.*, Os benzodiazepínicos são realmente inócuos? *Revista ABP-APAL*, **15**, 153-154 (1993).
 56. L.M. Lueptow, Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice, *Journal of Visualized Experiments*, **126**, e55718 (2017).
 57. S.E. Ramos, *Efeito da condição claro/escuro e da intensidade luminosa na aprendizagem e memória de trabalho de camundongos Swiss*, Dissertação (Mestrado em comportamento animal), Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2011, 36 p.

58. A.M. Bhandare, A.D. Kshirsagar, N.S. Vyawahare, *et al.*, Potencial atividade analgésica, antiinflamatória e antioxidante do extrato hidroalcoólico de noz de *Areca catechu* L., *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 3412-3417 (2010).
59. T. Mekonnen, K. Urga, E. Engidawork, Evaluation of the diuretic and analgesic activities of the rhizomes of *Rumex abyssinicus* Jacq in mice, *Journal of Ethnopharmacology*, **127**, 433-439 (2009).

COMO CITAR ESTE ARTIGO

L.F.C. dos Reis, A.G.R. Ribeiro, F.S.I. França, C.D. Cerdeira, M.H. dos Santos, M.J. Marques, A.P. Castro, Efeitos sobre funções cognitivas, analgésicos e ansiolíticos de medicamentos homeopáticos e da 7-epiclusianona em um modelo experimental de camundongos *Swiss*, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **52**(1), 381-406 (2023).
<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v52n1.109390>