

Perfil Fitoquímico e Atividade Analgésica do Extrato das Folhas da *Plantago major* L.

Phytochemical Profile and Analgesic Activity of The Leaf Extract From Plantago major L.

Antonio R. da Silva Neto,^a Amanda C. de S. O. Sousa,^a Luiz F. R. Camboim,^b João P. R da Silva,^a Antônio L. M. Maia Filho,^b Francisco R. Leal,^c Clara A. C. B. Costa,^d Jennifer M. D. Freitas,^d Johnnatan D. de Freitas,^d Rosemarie B. Marques,^b Valdiléia T. Uchôa^{a,*}

^aUniversidade Estadual do Piauí, Centro de Ciências da Natureza/Geratec/Química, CEP 64002-150, Teresina-PI, Brasil

^bUniversidade Estadual do Piauí, Centro de Ciências da Saúde/NPBio/Facime, CEP 64002-150, Teresina-PI, Brasil

^cUniversidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias/Agronomia/CCA, CEP 64049-550, Teresina-PI, Brasil

^dInstituto Federal de Alagoas, Centro de Ciências da Natureza/Produtos Naturais/Química, CEP 57020-600, Maceió-AL, Brasil

*E-mail: valdileiatexeira@ccn.uespi.br

Recebido em: 6 de Dezembro de 2021

Aceito em: 22 de Junho de 2022

Publicado online: 18 de Julho de 2022

Pain is a global public health problem with a great impact on quality of life, becoming one of the most important points to be studied by modern medicine, as it reflects in every context in which the individual is inserted. Thus, studies for the development of drugs for the treatment of pain include medicinal plants. The aim was to verify the phytochemical profile and analgesic activity of ethanolic and hexane extracts from the leaves of *Plantago major* L., using chromatographic techniques and pain-induced protocols in mice of the species *Mus musculus*. The open field test was performed to assess the animals' motor activity. The results found for GC-EM for the hexane extract showed 50 compounds and 34 ethanolic compounds of this species, in the HPLC analysis, the ethanolic extract showed the presence of cumaric acid and catechin. The extracts caused a decrease in abdominal contortions in the tested groups compared to the control group. The results presented in the open field test, the groups tested did not show muscle relaxant effect. It can be suggested, then, that the extracts have analgesic action

Keywords: *Plantago major* L; phytochemical prospection; analgesic effect.

1. Introdução

A dor pode apresentar-se sob várias formas, podendo ser aguda, crônica, visceral, inflamatória ou neuropática.^{1,2} Não se trata, apenas, de um dano causado no tecido, ela reflete em todo o contexto que o indivíduo é inserido, oscilando as variáveis psicológicas, atenção primária, ansiedade e estresse.³ A dor faz parte da vida de muitas pessoas e acompanha a maioria das patologias presentes na prática médica atual. Esse é um problema de saúde pública e um desafio para a medicina em busca de novos fármacos e terapias que possam auxiliar no processo de cura ou de alívio da dor.⁴

O processo da dor é caracterizado por uma resposta a estímulos originados por danos teciduais ou pelo desconforto que ocorre dentro do corpo humano. Além disso, pode ser decorrente de respostas não adaptativas do organismo, impactando nas atividades do cotidiano e qualidade de vida do indivíduo.^{5,6} Cabe ainda ressaltar que o aumento da expectativa de vida pode acentuar o aparecimento de patologias crônicas.^{3,7,8}

O alívio da dor requer o uso de analgésico que funciona no bloqueio das prostaglandinas, substância que é liberada pelo corpo em resposta a dores e lesões, fazendo com que o corpo entenda o processo de redução da injúria ou lesão que foi causada.^{4,9} Estudos afirmam que mais da metade das consultas realizadas nos Estados Unidos - dentro da atenção primária - são para dores classificadas de moderadas a graves, casos em que geralmente são prescritos anti-inflamatórios não esteroides (AINES), utilizados para o controle inadequado de dores.¹⁰

Por outro lado, a busca por melhor qualidade de vida faz com que a comunidade científica procure desenvolver pesquisas com o uso de outras vertentes terapêuticas: como o uso de plantas medicinais, que apresentam fins terapêuticos alternativos, com o desejo de sanar problemas farmacológicos.^{11,12} O uso de diferentes formas de terapias para o alívio de dores e outras patologias é difundido pelo homem desde a Antiguidade. dentre essas terapias a utilização de plantas medicinais, que é uma prática desenvolvida há séculos pela medicina popular, ou seja, aquela repassada pelo relato sobre o uso dessas plantas de geração a geração.^{13,14}

O Brasil é considerado um país que apresenta uma enorme biodiversidade de plantas. Atualmente possui mais de 45 mil espécies catalogadas, incluindo a *Plantago major* L., uma planta que pertence à família Plantaginaceae e que apresenta uma larga distribuição em todo

o mundo.¹⁵⁻¹⁷ Sabe-se que a mesma é oriunda da Europa e do Norte da Ásia.^{16,18}

Esta espécie apresenta uma variedade de nomes populares, tais como: tanchagem, tanchagem maior, língua de vaca, dentre outros.¹⁹ A *P. major* é bastante utilizada na Medicina popular para o tratamento de doenças digestivas e infecções da pele.²⁰ Estudos demonstram sua atividade nos tratamentos em células cancerígenas, febres, tosses e dores de garganta, e por suas propriedades anti-inflamatórias é utilizada no tratamento de gengivite e aftas; além de apresentar efeito ativo no tratamento de leucemia e uma boa atividade anti-inflamatória.²¹⁻²³

Neste estudo, buscou-se verificar o perfil fitoquímico e a atividade analgésica dos extratos etanólico e hexânico das folhas da *P. major* por meio de técnicas cromatográficas e protocolos de dor induzida em camundongos da espécie *Mus musculus*, através de métodos como teste de contorções abdominais e campo aberto.

2. Experimental

2.1. Material vegetal e animais

O registro da Pesquisa foi realizado na plataforma do Sistema Nacional de Gerenciamento do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), sob o número AC9D347. As folhas da *P. major* foram coletadas no período de outubro a novembro de 2019, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil (latitude 4° 09' 14.8 "S e longitude 41° 18' 28.3 "W). A planta foi identificada pelo botânico Dr. Francisco Soares Santos Filho, sendo uma exsicata depositada no Herbário Afrânio Gomes/ Universidade Estadual do Piauí, com registro HAF 04645. O Projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UESPI), com protocolo 0328/2019.

2.2. Extração do material vegetal

As folhas coletadas (380 g) foram separadas, secas em temperatura ambiente e moídas em moinho de facas. O pó seco da *P. major* (20 g), foi submetido ao método de maceração por três vezes consecutivas com etanol e hexano a 99 %, em um extrator de aço inoxidável a uma temperatura de 26 °C ± 1, a intervalos de 7 dias. Os extratos etanólico e hexânico das folhas *P. major* foram concentrados em evaporador rotativo a 40 °C e baixa pressão, sendo, posteriormente, liofilizado para a eliminação da umidade residual.

2.3. Prospecção fitoquímica

Os extratos etanólico e hexânico da *P. major* foram submetidos à prospecção fitoquímica para identificação de flavonoides, taninos, saponinas, esteroides/triterpenoides

e alcaloides, conforme Matos (2009), e os resultados obtidos baseiam-se nas reações qualitativas de precipitação e mudança de coloração, além das propriedades físico-químicas dos constituintes químicos que compõem a planta.²⁴

2.4. Análise CLAE do Extrato etanólico das folhas *P. major*

As análises por CLAE foram realizadas no Laboratório de Análise Instrumental do Instituto Federal de Alagoas (IFAL) em cromatógrafo Shimadzu (LC-20A), com os seguintes componentes: forno (CTO-20A), amostrador automático (SIL-20A), detector UV/VIS (SPD-20A), desgaseificador (DGU-205R), controladora (CBM-20A) e coluna C18 Shim-pack (tamanho das partículas 5 µm, 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro). Foi utilizado o software LC-Solution 1.0 para processamento dos dados. Os extratos e os padrões foram filtrados em filtros Allcrom, tipo PVDF (Fluoreto de polivinilideno), porosidade de 0,45 µm, e diâmetro de 13 mm. As condições experimentais foram configuradas da seguinte forma: fluxo de 0,6 mL/min, tempo de análise de 80 min, volume de injeção de 20µL, temperatura do forno de 33 °C e comprimento de onda de 290 nm, sendo a fase móvel constituída dos solventes A (solução de ácido fórmico 0,1%) e B (metanol). As amostras e padrões analíticos foram eluídos de acordo com o gradiente de variação: de 0 a 15 minutos (7-25% B); 15 a 38 minutos (25-50% B); 38 a 58 minutos (50-85% B); 58 a 62 minutos (85-25% B); 62 a 80 minutos (25-7% B). A identificação de compostos no extrato foi realizada por comparação do tempo de retenção (t_R) com aqueles obtidos injetando padrões obtidos da preparados sob as mesmas condições. Para quantificação foi construída uma curva analítica (10 pontos) a partir de uma solução contendo uma mistura de todos os padrões obtidos da Merck com alta pureza (ácido gálico (≥97,5%), catecol (≥99%), catequina (≥95%), ácido clorogênico (≥95%), ácido caféico (≥98%), vanilina (99%), siringaldeído (≥99%), ácido cumárico (≥98%), cumarina (≥99%), rutina (≥94%), miricetina (≥96%), quercetina (≥95%). Para isso, foram preparadas soluções com concentrações que variaram de 1 a 10 ppm em solução metanol:água (70:30 v/v). A concentração injetada dos extratos foi de 200 ppm. Após determinação da concentração expressa em ppm de cada analito obtida a partir da curva analítica, foi realizada a conversão da concentração para mg do composto por g de extrato.

2.5. Análise GC-EM dos Extratos hexânico e etanólico das folhas da *P. major*

A cromatografia gasosa e espectrometria de massa dos Extratos etanólico e hexânico das folhas da *P. major* foram realizadas em um cromatógrafo a gás, acoplado a espectrômetro de massas Shimadzu, modelo GC/MS-GCMS-QP2010CN Ultra, equipado com injetor split/splitless (250 °C), coluna cromatográfica capilar do

tipo DB-1 (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), com fase estacionária composta de 100% dimetilpolisiloxano, 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,10 µm de espessura de filme. A programação de temperatura iniciou a 50 °C e permaneceu por 5 minutos, sendo elevada em seguida para 250 °C com taxa de crescimento de 5 °C/min, permanecendo por 35 minutos. A temperatura da câmara de ionização e da interface entre CG/EM foi 200 °C e 250 °C, respectivamente. Como gás de arraste foi usado o Gás Hélio, com fluxo de 1,69 mL/min (100 kPa) e utilizado o modo splitless. Para a injeção, foi preparada uma solução de 1mg/L de cada extrato no seu respectivo solvente de extração, ou seja, em Etanol e Hexano. Posteriormente, 1 µL dessa solução foi injetada no cromatógrafo. O espectrômetro de massas operou a 70 eV no modo SCAN (Full Scan) com relação m/z iniciando em 35 e finalizando em 650. Os compostos foram identificados por comparação com espectros de massas disponibilizados nas bibliotecas NIST14, NIST14s e Wiley9, sendo considerados os compostos com mais de 70% de similaridade. A quantificação relativa de cada composto foi realizada por normalização de área com os seguintes parâmetros de integração: Slope: 100/min, width: 2 s, drift: 0/min, T.DBL 1000 min, mínima relação área/altura: 10 e sem nenhum smoothing usado no método.

2.6. Teste de contorção abdominal induzido por ácido acético em camundongos

Os camundongos, antes do experimento, foram separados e colocados em jejum por 12 horas, com livre acesso à água. Os extratos etanólico e hexânico das folhas da *P. major* (doses de 300, 600, 1200 mg/kg) e o controle negativo (água 0,1 mL/10 g de peso de animal) foram administrados 1 h antes da aplicação intraperitoneal de Ácido Acético 0,9 %. O controle positivo recebeu Morfina 2,5 mg/kg por via subcutânea, 30 minutos antes do Ácido Acético. Os números de contorções foram registrados durante um período de 20 minutos. Cada grupo era composto de seis animais por cada dose.²⁵

2.7. Teste de campo aberto

Este estudo foi realizado utilizando-se uma caixa de vidro com paredes transparentes e chão preto (30×30×15 cm), a sua base dividida em 9 quadrantes de diâmetros iguais. Um dia antes do experimento os camundongos foram colocados na arena para ambientação, sendo divididos em quatro grupos, cada grupo com seis animais, para os dois extratos. Os animais foram tratados 1 hora antes com veículo (água 0,1 mL/10g, v.o.) e Extratos etanólico e hexânico (ambos na melhor dose: 300 mg/kg, v.o.). O grupo controle positivo recebeu 30 minutos antes da observação, Diazepam (4 mg/kg, i.p). Durante 5 minutos os animais foram observados para que fossem registrados os números de invasões de cada animal. Considerou-se uma invasão quando as quatro patas estavam dentro de um quadrante.^{26,27}

2.8. Análise estatística para os testes biológicos

Os dados foram analisados utilizando One-Way ANOVA seguido do pós-teste de Tukey. Considerou-se nível de significância de 5 % (p<0,05). Os resultados foram expressos como médias±desvio-padrão.

3. Resultados e Discussão

3.1. Triagem fitoquímica por prospecção preliminar dos Extratos hexânico e etanólico das folhas *P. major*

Na prospecção preliminar fitoquímica realizada com os Extratos etanólico e hexânico das folhas da *P. major*, apontou-se a presença de classes de metabólitos secundários, para o Extrato hexânico verificou-se a presença de saponinas, triterpenoides, esteroides. Enquanto para o Extrato etanólico observou-se a presença de flavonoides, esteroides e saponinas.

A *P. major* dispõe de uma gama de compostos bioativos, incluindo, terpenoides, compostos fenólicos (derivados do Ácido Cafeico), alcaloides, flavonoides, glicosídeos, vitaminas e iridoídeos.²⁸ Esses compostos podem ser encontrados em várias partes da planta, que vai desde as sementes, folhas, flores até as raízes. As propriedades de bioatividades da *P. major* são atribuídas devido à presença destes constituintes químicos.²⁹

A partir dos registros obtidos dos testes de triagem fitoquímica, realizados nesta Pesquisa, observou-se que o Extrato hexânico e etanólico da *P. major*, apresentou em comum os metabólitos secundários como as saponinas e os esteroides. Para o extrato hexânico ainda foram encontrados triterpenos, enquanto que no extrato etanólico observou-se a presença de flavonoides.

Estudos como os realizados por Jamilah et al. (2012), relataram que o extrato metanólico das folhas da *P. major* apresenta metabólitos secundários: fenol, flavonoides e terpenoides.²⁹ Corroborando com demais estudos realizados com o extrato da folha de *P. major* os quais relataram a presença de flavonoides.³⁰ Zubair et al. (2015) também identificaram no extrato etanólico da *P. major* a presença de taninos, alcaloides, triterpenos, carboidratos, lactonas/ésteres, proteínas/aminoácidos, antraquinonas reduzidas, cumarinas e esteroides livres.^{31,32}

Pesquisas realizadas a partir do extrato etanólico das folhas de *P. major*, afirmam a presença para os metabólitos alcaloides, flavonoides, saponinas e taninos e resultado negativo para antraquinonas.³³ Em comum acordo com a nossa Pesquisa, observou-se a presença de flavonoides e saponinas. A ausência de alguns metabólitos secundários pode estar relacionada às variações ambientais, ação dos polinizadores, condições climáticas, estresse que a planta pode sofrer.^{16,33}

3.2. Cromatografia Gasosa acoplada a espectrômetro de massa CG-EM

A análise realizada por CG-EM no extrato etanólico das folhas da *P. major* mostrou a presença de vinte e sete compostos fitoquímicos, sendo vinte e um identificados. No extrato hexânico foi revelada a presença de quarenta e cinco compostos fitoquímicos, sendo vinte e sete identificados. Este resultado mostrou-se diferente em relação a outros estudos realizados com as folhas da *P. major* para os mesmos solventes.

No processo de análise de CG-EM foram detectados no extrato etanólico das folhas da *P. major*, vários compostos orgânicos das classes aldeídos, aminas, ciano, éteres, cetonas, ésteres, ácidos carboxílicos e álcoois. Enquanto no extrato hexânico foram encontrados hidrocarbonetos, ésteres, éter, amida, aldeído e álcool.

Alguns compostos apresentam percentuais de áreas mais representativos e outros menos. Em relação ao extrato etanólico, é possível observar na Tabela 1, que os compostos

acetato de fitol (**02**), acetato de 22,23-dibromoestigmasterol (**26**) e 3,5-dimetil-ciclohexanol (**11**), foram identificados com maior percentual relativo à área, de 10,61 %, 7,50 % e 2,63 %, respectivamente.

No Extrato hexânico, os compostos químicos presentes em maiores percentuais foram: heneicosano (**53**), dibenzoato de dietilenoglicol (**29**), nonadecil-ciclohexano (**69**), 7-metilheptadecano (**33**), com os seguintes percentuais 20,84%; 20,97%; 14,29%; 11,63%, respectivamente, conforme a Tabela 2.

Em estudos do gênero *Plantago*, como a *P. amplexicaulis* e *P. lanceolata*, o extrato alcoólico dessas plantas determina principalmente a presença de ácidos graxos como: ácido palmítico e ácido linoleico, que foram identificados como os principais constituintes das referidas espécies. Esses compostos não foram identificados em nenhum dos extratos da nossa Pesquisa.³⁴

Os extratos etanólico e hexânico não apresentaram compostos fitoquímicos em comum, mostrando que a extração com solventes de polaridade diferente foi eficaz.

Tabela 1. Compostos identificados na análise por CG-EM do Extrato etanólico das folhas da *P. major* com seus respectivos: tempos de retenção, fórmulas e massas moleculares e percentuais relativos de áreas

Nº	T _R (min)	Composto	Fórmula molecular	Massa molecular (u)	Percentual relativo de área (%)
01	18.226	não identificado		43	0,52
02	21.969	acetato de fitol	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	338	10,61
03	22.108	glicidol	C ₃ H ₆ O ₂	74	0,45
04	22.450	não identificado	-	212	1,52
05	22.755	6-octen-1-ol, 3,7-dimetil-propanoato	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	212	2,58
06	23.688	ácido 2-metil-pentanóico,	C ₆ H ₁₀ O ₂	116	1,47
07	24.066	ácido ftálico, 4-bromofenil hexil éster	C ₂₀ H ₂₁ BrO ₄	404	0,42
08	25.163	não identificado	-	652	2,41
09	25.608	não identificado	-	43	0,33
10	26.608	ácido oxálico, éster dialílico	C ₈ H ₁₀ O ₄	170	0,63
11	26.912	3,5-dimetil-ciclohexanol	C ₈ H ₁₆ O	128	2,63
12	27.251	ácido 2-metilheptanoico	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	0,37
13	27.827	não identificado	-	652	1,51
14	28.718	4-metil-2-oxetanona	C ₄ H ₆ O ₂	86	0,41
15	30.025	azidrina	C ₂ H ₅ N	43	0,52
16	30.291	não identificado	-	652	1,14
17	32.584	1-(2-metoxietoxi)-2-metil-2-propanol	C ₈ H ₁₈ O ₃	162	0,87
18	33.184	ácido oxálico, butil propil éster	C ₉ H ₁₆ O ₄	188	0,44
19	34.742	1,3-dioxolano-2-metanol	C ₄ H ₈ O ₃	104	0,34
20	36.025	2,2,4-trimetil-3-pentanona	C ₈ H ₁₆ O	128	0,55
21	37.374	ácido oxálico, éster alil butílico	C ₉ H ₁₄ O ₄	186	0,32
22	37.529	anidrido metacrílico	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	0,63
23	38.691	2,2,4-trimetil-3-pentanona	C ₈ H ₁₆ O	128	0,54
24	41.198	3,5-dimetil-4-octanona	C ₁₀ H ₂₀ O	156	2,33
25	41.936	ácido 2-propenóico, éster etenílico	C ₅ H ₆ O ₂	98	0,71
26	42.614	acetato de 22,23-dibromoestigmasterol	C ₃₁ H ₅₀ Br ₂ O ₂	612	7,50
27	43.567	2,2-Dimetil-3-hexanona	C ₈ H ₁₆ O	128	0,39

Fonte: Autores (2021)

Tabela 2. Compostos identificados na análise por CG-EM do extrato hexânico das folhas da *P. major* com seus respectivos: tempos de retenção, fórmulas e massas moleculares e percentuais relativos de áreas

Nº	T _R (min)	Composto	Fórmula Molecular	Massa Molecular (u)	Percentual Relativo de área (%)
28	31.897	2-bromo dodecano	C ₁₂ H ₂₅ Br	118	2,26
29	32.370	dibenzoato de dietilenoglicol	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	424	20,97
30	32.572	pentadecano	C ₁₅ H ₃₂	98	2,36
31	32.625	4-fenilmorfolina	C ₁₀ H ₁₃ NO	98	2,13
32	33.165	Não identificado	-	140	4,44
33	33.956	7-metilheptadecano	C ₁₈ H ₃₈	124	11,63
34	34.334	Não identificado	C ₂₁ H ₄₄	268	9,69
35	34.713	Não identificado	-	158	9,78
36	35.728	Não identificado	-	144	5,07
37	35.970	Não identificado	-	96	6,04
38	36.219	Não identificado	-	128	10,99
39	37.109	2-metiloctacosano	C ₂₉ H ₆₀	118	1,14
40	37.357	Não identificado	-	158	3,96
41	37.506	Não identificado	-	118	0,98
42	37.705	Não identificado	-	112	2,29
43	37.808	ácido 1,3-benzenodicarboxílico, bis (2-etilhexil) éster	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	128	0,55
44	38.279	(Z) 9-octadecenamida	C ₁₈ H ₃₅ NO	96	1,68
45	38.533	2-metiloctacosano	C ₂₉ H ₆₀	284	0,90
46	38.670	Não identificado	-	296	0,55
47	38.882	Não identificado	C ₂₁ H ₄₄	270	0,07
48	39.094	esqualeno	C ₃₀ H ₅₀	294	0,07
49	39.158	docosano	C ₂₂ H ₄₆	306	0,56
50	39.306	ácido 1,2-benzenodicarboxílico, bis (8-metilnonil) éster	C ₂₈ H ₄₆ O ₄	238	0,10
51	40.053	Não identificado	-	266	0,16
52	40.294	Não identificado	-	296	0,29
53	40.568	heneicosano	C ₂₁ H ₄₄	296	20,84
54	40.692	3,3-dimetil-5-oxo-ciclohexanocarboxaldeído,	C ₉ H ₁₄ O ₂	154	0,10
55	40.758	pentadecanal	C ₁₅ H ₃₀ O	226	0,09
56	41.266	5,15-dimetilnonadecano	C ₄₄ H ₉₀	296	0,07
57	41.398	tetratetracontano	C ₁₅ H ₃₂	296	1,70
58	41.491	3-metiltetradecano	C ₂₅ H ₅₀	618	0,81
59	41.583	1-ciclopentileicosano	C ₁₂ H ₂₂	212	0,32
60	41.658	biciclohexil	C ₁₈ H ₃₈	350	0,10
61	41.894	octadecano	C ₂₁ H ₄₄	166	0,20
62	41.894	Não identificado	-	254	21,11
63	42.081	triacontano-1,30-diol	C ₁₃ H ₂₈	296	0,70
64	42.325	Não identificado	-	454	0,10
65	42.557	6-metildodecano	C ₃₁ H ₆₄	184	1,14
66	42.689	Não identificado	-	408	0,64
67	42.806	hentriacontane	C ₂₅ H ₅₀	436	0,35
68	42.909	Não identificado	-	350	0,14
69	43.134	nonadecil-ciclohexano,	C ₂₅ H ₅₀	350	14,29
70	43.320	Não identificado	-	296	0,82
71	44.261	4-ciclohexilnonadecano	C ₁₅ H ₃₂	350	0,65
72	44.300	Não identificado	-	408	0,49
73	44.300	2,7,10-trimetildodecano	C ₁₅ H ₃₂	212	0,49

Fonte: Autores (2021)

No extrato etanólico da *P. major*, podemos citar o composto Aziridina (15), que é um composto ainda não identificado em nenhuma espécie do gênero *Plantago*, mas apresenta identificação em outras espécies de plantas, com as quais apresentam atividade biológica comprovada.^{35,36}

O composto docosano (49), presente no extrato hexânico das folhas da *P. major*, é um composto conhecido e que foi identificado no óleo de plantas da mesma família, como a *E. hispânica*, *A. linearifolia*, *P. amplexicaulis* e *P. lanceolata*, sendo que esta última possui grande concentração do mesmo.³⁷ Os compostos (Z) 9-octadecenamida (44), esqualeno (48) e heneicoisano (53) foram identificados por CG-MS em outros estudos, os quais corroboram com a nossa pesquisa, afirmando a presença destes compostos encontrados no Extrato hexânico das folhas da *P. Major*.³⁸⁻⁴⁰

O composto (Z) 9-octadecenamida (44), é uma amida de ácido oleico, também identificado no estudo realizado por Santos (2017), o qual aponta que sua atividade anti-inflamatória é eficaz, levando a afirmar que este é um composto que desperta atenção na comunidade científica.³⁹

Os compostos (10), (15), (22), (24) identificados no Extrato etanólico das folhas da *P. major* (Tabela 1), foram relatados pela primeira vez nos Extratos das folhas de *P. major*, o que propõe a necessidade de maiores pesquisas que possam corroborar com o conhecimento acerca desses compostos, para identificá-los e determinar suas bioatividades.

Observa-se, com isso, que a planta estudada, apresenta uma diversidade de compostos bioativos encontrados nas folhas da *P. major*. Contudo, a grande maioria dos metabólitos secundários, identificados na *P. major* possuem atividade biológica já descrita na literatura científica. O Quadro 1 apresenta alguns destes compostos e suas atividades biológicas.

Os extratos hexânico e etanólico das folhas da *P. major* apresentaram resultados condizentes com pesquisas já

realizadas. Os achados científicos ainda possuem estudos com baixa discussão acerca da composição química do extrato etanólico da *P. Major*. Isso corrobora com resultados apresentados nesta Pesquisa diferentemente do extrato hexânico, cujos resultados obtidos são parcialmente semelhantes com o que é discutido na literatura, sobre a identificação dos constituintes químicos na *P. major*. Portanto, são necessários mais estudos sobre esses extratos, tanto de identificação como de propriedades terapêuticas dos mesmos.

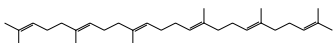
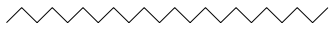
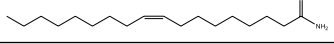
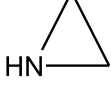
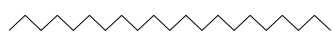

3.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE dos extratos etanólico e das folhas da *P. major*

O método desenvolvido para identificação por CLAE forneceu uma análise rápida do extrato etanólico das folhas da *P. major*, que apresentou um cromatograma com muitos sinais. Mas foi possível identificar e quantificar a presença dos compostos fenólicos: catequina ($t_R = 26$ min) com 13,045 mg/g de extrato e o ácido cumárico ($t_R = 36$ min) com 4,47 mg/g de extrato (Figura 1).

Estudos realizados por Adom et al. (2017) mostraram que o extrato etanólico da *P. major* apresentou vários constituintes químicos, dentre eles a presença de flavonoides, apresentados em testes *ex-vivo* com efeito cicatrizante, anti-inflamatório e antioxidante.⁴⁸ Sendo detectada, pela primeira vez, a presença da catequina entre os compostos fitoquímicos na *P. major* ou no gênero *Plantago*.

A catequina é um flavonoide que apresenta efeitos como a redução da glicose, lipídios, ácido úrico e no tratamento de doenças neurodegenerativas.⁴⁴ Pesquisas demonstraram que a catequina apresenta potente atividade anti-inflamatória e analgésica, relacionada às vias de sinalização celular.⁴⁷ O que leva a corroborar com a presente Pesquisa, que propõe o efeito analgésico dos Extratos etanólico e hexânico das folhas da *P. major*.

Quadro 1. Compostos identificados por CG-EM dos Extratos etanólico e hexânico das folhas da *P. major* com suas respectivas atividades biológicas

Compostos	Fórmula estrutural	Classe de Compostos Orgânicos	Atividade Biológica
Esqualeno		Hidrocarboneto	Anti-inflamatório ⁴¹
Docosano		Hidrocarboneto	Atividade antimicrobiana ⁴¹
(Z) 9-octadecenamida		Amida	Ação antifúngica e antibacteriana ⁴²
Aziridina		Amina	Antibiótica, anticarcinogênica, citotóxicas ⁴³
Heicosano		Hidrocarboneto	Serve como um potente agente larvicida para o controle de mosquitos <i>Culex quinquefasciatus</i> ⁴⁴
Hentriacontano		Hidrocarboneto	Anti-inflamatório ⁴⁵ , Antitumoral ⁴⁶ , efeito citotóxico em células de linfoma ⁴⁷ , atividade antimicrobiana, e anticâncer do n-triacontano isolado ⁴⁵

Fonte: Autores (2021)

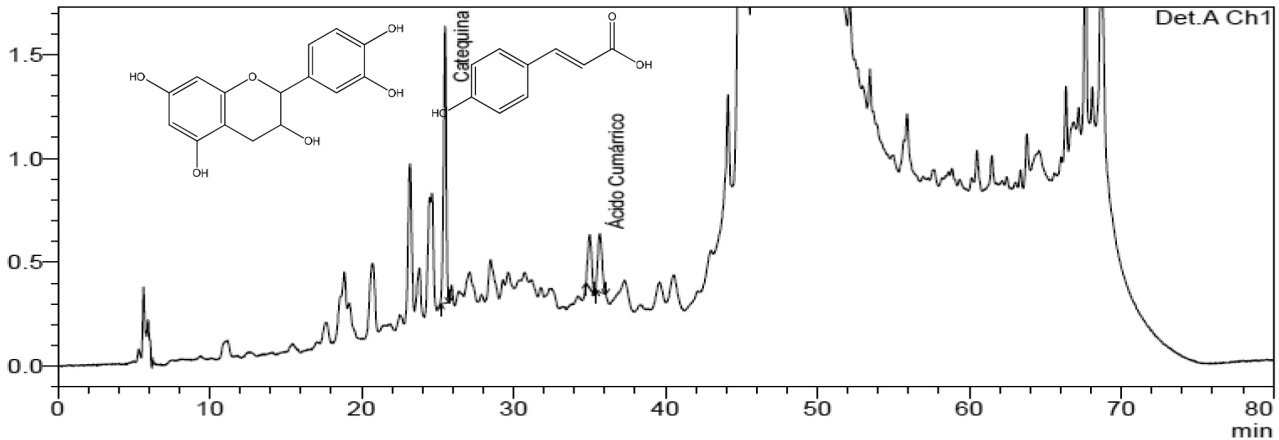


Figura 1. Apresentação do cromatograma do extrato etanólico das folhas da *Plantago major* em 290 nm e padrões cromatográficos: (1) catequina e (2) ácido cumárico. Fonte: Autores (2021)

Um estudo revelou a atividade antiviral da *P. major* no vírus da herpes (HSV-1, HSV-2) e adenovírus (ADV3, ADV8 e ADV-11). Alguns compostos puros do extrato aquoso da *P. major* apresentaram constituintes essenciais que exibem atividade anti-herpes e antiadenovírus, destacando-se o ácido *p*-cumárico, que apresentou bons resultados para o espectro de mais efeito na atividade antiviral.⁴⁹

3.4. Análises Comportamentais

3.4.1. Contorções abdominais

No protocolo de contorções abdominais, induzidas com ácido acético, os grupos que receberam o extrato hexânico da *P. Major*, administrado por via oral, apresentaram uma diminuição do número de contorções abdominais nas doses de 300 ($28,50 \pm 10,41$), 600 ($20,67 \pm 10,27$) e 1200 ($31,00 \pm 22,14$) mg/kg, quando comparados ao controle negativo ($61,67 \pm 5,16$). O grupo que recebeu Morfina ($3,00 \pm 4,64$)

teve uma diferença significativa com relação ao grupo controle negativo (Figura 2).

Em estudos realizados com o extrato metanólico da semente *P. major*, observou-se efeito significativo sobre a atividade antinociceptiva, mostrando uma efetividade de 62,3% em relação ao grupo controle. No entanto, nas mesmas doses, a efetividade do extrato da folha foi de apenas 48,8%.⁵⁰

O extrato etanólico também foi testado pelo mesmo protocolo de avaliação de dor em que foi observada uma diminuição do número de contorções abdominais, nas doses de 300 ($39,83 \pm 7,80$) e 600 ($41,50 \pm 14,47$) mg/kg. Já a dose de 1200 ($67,83 \pm 17,24$) mg/kg, apresentou um valor superior ao grupo controle negativo. O grupo que recebeu morfina ($3,00 \pm 4,64$) teve uma diferença significativa com relação ao grupo controle negativo (Figura 3).

Quando comparamos a eficiência e resultados dos extratos deste estudo, observou-se que o extrato hexânico apresenta uma melhor atividade em relação ao extrato

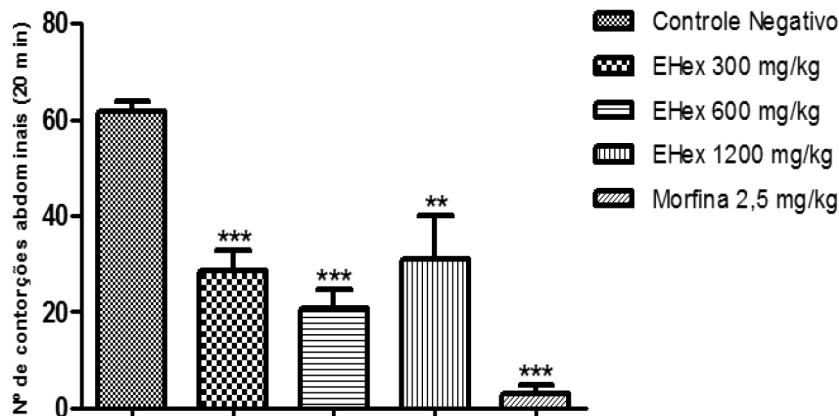


Figura 2. Efeitos do Extrato hexânico das folhas de *Plantago major* L. no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Os camundongos foram pré-tratados com solução salina (veículo, controle negativo), Extrato hexânico (EHex 300, 600, 1200 mg/kg, v.o.), 60 minutos antes da injeção de Ácido Acético 0,9%. A Morfina (2,5 mg/kg, s.c.) foi administrada 30 minutos antes da injeção de Ácido Acético 0,9%. Os resultados são expressos como média±desvio-padrão (n=6). A significância estatística foi calculada por análise de variância (ANOVA) seguida de pós-teste de Tukey. ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$, quando comparados ao controle negativo

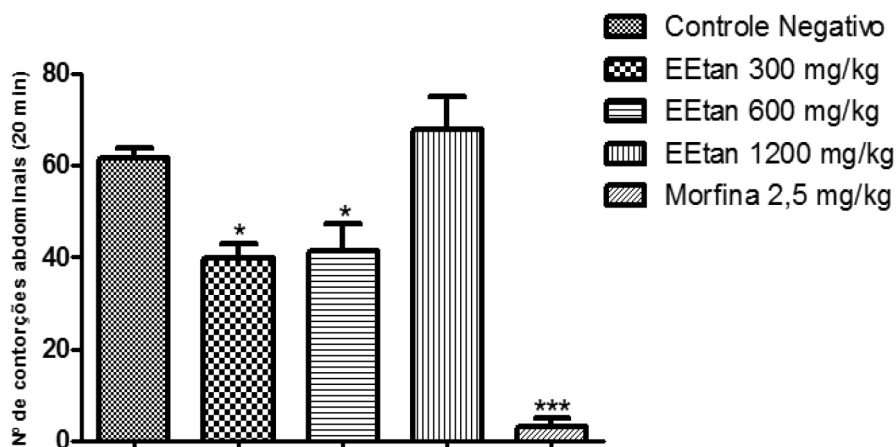


Figura 3. Efeitos do Extrato etanólico das folhas de *Plantago major* L. no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Os camundongos foram pré-tratados com solução salina (veículo, controle negativo), extrato hexânico (EEtan 300, 600, 1200 mg/kg, v.o.), 60 minutos antes da injeção de ácido acético 0,9%. A morfina (2,5 mg/kg, s.c.) foi administrada 30 minutos antes da injeção de ácido acético 0,9%. Os resultados são expressos como média±desvio-padrão (n=6). A significância estatística foi calculada por análise de variância (ANOVA) seguida de pós-teste de Tukey. * p<0,05 e ***p<0,001, quando comparados ao controle negativo

etanólico. Isso está diretamente ligado à presença dos metabólitos secundários presentes nesse extrato, como os compostos fitoquímicos triterpenos e os taninos, ambos identificados. Os terpenos são substâncias bastante estudadas por seu efeito analgésico. Além disso, já existem 39 patentes registradas em todo o mundo, em que são relacionados efeitos analgésicos aos terpenoides.⁵¹

Esse estudo também pode ser corroborado com outros onde se realizaram pesquisas com extratos metanólico e hexânico da *Tamarindus indica* L., sendo que observaram o efeito analgésico dos extratos. Isso pode ser atribuído à presença do metabólito secundário tanino.⁴⁷ Portanto, pode-se sugerir que houve efeito analgésico apresentado nos grupos que receberam o extrato hexânico, possivelmente devido à presença de taninos no mesmo.

Em relação ao efeito inibitório da dor nos animais testados com o extrato etanólico, a possível relação dessa ação pode estar associada à presença dos compostos metabólitos flavonoides, encontrados nos protocolos de estudo fitoquímico. Atualmente, existem vários estudos que fazem essa correlação, incluindo, o estudo com evidências pré-clínicas e clínicas das propriedades analgésicas e anti-inflamatórias desses compostos.⁵² Pesquisadores realizaram estudo com o flavonoide quercetina e demonstraram resultados que este metabólito possui efeitos analgésico e anti-inflamatório em protocolo de artrite crônica.⁵³

3.4.2. Campo aberto

O número de invasões por quadrante apresentado pelo grupo que recebeu 300 mg/kg do extrato etanólico não foi estatisticamente diferente do grupo controle negativo, sendo as médias±desvio-padrão de 46,80±18,01 e 70,80±34,82, respectivamente (Figura 4a). No entanto, os dois grupos foram diferentes do que recebeu diazepam (7,40 ± 5,50).

Também não houve diferença estatística entre o grupo que recebeu extrato hexânico, na mesma dose, e o grupo controle negativo, sendo as médias±desvio-padrão de 61,00 ± 28,53 e 65,67 ± 33,59, respectivamente. Estes, no entanto, foram diferentes do grupo controle positivo (6,16 ± 5,77), conforme a Figura 4b.

Os extratos hexânico e etanólico das folhas da *P. major* não alteraram a atividade locomotora dos animais no teste do campo aberto. Este resultado indica que não houve efeito sedativo ou relaxante muscular semelhante ao grupo que recebeu diazepam.

4. Conclusão

A investigação fitoquímica por CG/EM dos Extratos etanólico e hexânico da folhas da *P. major*, identificou 21 e 27 compostos fitoquímicos, respectivamente. Os compostos Acetato de fitol, Acetato de 22,23-dibromostigmasterol e 3,5-dimetil-ciclohexanol são os compostos majoritários para o Extrato etanólico e composto Aziridina (0,52%). Eles foram identificados pela primeira vez na espécie e gênero da planta estudada. Já os compostos majoritários para o extrato hexânico foram os heneicosano, dibenzoato de dietilenoglicol, nonadecil-ciclohexano e 7-metilheptadecano. Os compostos catequina (13,045 mg/g de extrato) e ácido cumárico (4,47 mg/g de extrato) foram identificados e quantificados no extrato etanólico, através do CLAE. A partir de resultados dos testes biológicos, sugere-se que ambos os extratos estudados possuem efeito antinociceptivo, possivelmente relacionados à presença de compostos bioativos. No entanto, faz-se necessária a realização de mais protocolos de nocicepção para confirmar esse efeito.

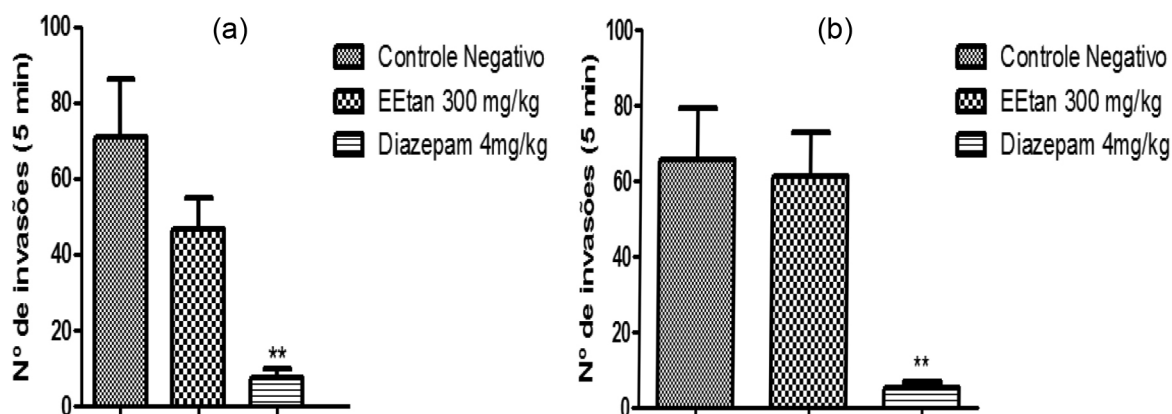


Figura 4. a). Efeitos do extrato etanólico das folhas de *Plantago major* no modelo de campo aberto, para observação dos quadrantes invadidos. Os camundongos foram pré-tratados com solução salina (veículo, controle negativo), extrato etanólico (EEtan 300 mg/kg, v.o.). Após 60 minutos, os animais (um por vez) foram colocados na arena para ser observado o número de invasões de quadrantes durante 5 minutos. O grupo que recebeu diazepam (4 mg/kg, i.p.) só foi iniciada a observação (5 min) após 30 minutos da administração. Os resultados estão expressos como média±desvio-padrão (n=6). A significância estatística foi calculada por análise de variância (ANOVA) seguida de pós-teste de Tukey. **p<0,01, quando comparado ao grupo controle negativo. **b).** Efeitos do extrato hexânico das folhas de *Plantago major* no modelo de campo aberto, para observação dos quadrantes invadidos. Os camundongos foram pré-tratados com solução salina (veículo, controle negativo), extrato etanólico (EHex 300 mg/kg, v.o.). Após 60 minutos, os animais (um por vez) foram colocados na arena para ser observado o número de invasões de quadrantes durante 5 minutos. O grupo que recebeu diazepam (4 mg/kg, i.p.) só foi iniciada a observação (5 min) após 30 minutos da administração. Os resultados estão expressos como média±desvio-padrão (n=6). A significância estatística foi calculada por análise de variância (ANOVA) seguida de pós-teste de Tukey. **p<0,01, quando comparado ao grupo controle negativo.

Agradecimentos

Universidade Estadual do Piauí (UESPI); Instituto Federal de Alagoas (IFAL)

Referências Bibliográficas

- Masuda, R.; Ajimi, J.; Murata, T.; Pharmacotherapy for neuropathic pain in Japan. *Journal of Nippon Medical School* **2017**, *84*, 258. [[Crossref](#)]
- Tamba, B. I.; Leon, M. M.; Petrus, T.; Common trace elements alleviate pain in an experimental mouse model. *Journal of Neuroscience Research* **2013**, *91*, 554. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
- Uritu, C. M.; Stanciu, G. D.; Dodi, G.; Stratulat, T. A.; Luca, A.; Tamba, B. I.; Medicinal plants of the family Lamiaceae in pain therapy: a review. *Pain Research and Management* **2018**, *1*. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
- Singh, H.; Alternative treatment strategies for neuropathic pain: Role of Indian medicinal plants and compounds of plant origin-A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2017**, *92*, 634. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
- Dutta, T.; Paul, A.; Majumder, M.; Sultanb, R. A.; Emranc, T. I.; Pharmacological evidence for the use of *Cissus assamica* as a medicinal plant in the management of pain and pyrexia. *Biochemistry and Biophysics Reports* **2020**, *21*, 1. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
- Guerreiro, R. V.; Vargas, R. A.; Petricevich, V. L.; Analgesic effect of ethanolic extract of *Bougainvillea X Buttiana* (Var. Rose). *EC Pharmacology and Toxicology* **2016**, *2*, 224. [[Crossref](#)]
- Alexa, I. D.; Pancu, A. G.; Moroşanu, A. I.; Ghiciuc, C. M.; Lupşoru, C.; Prada, G. I.; The impact of self-medication with nsais / analgesics in a north-eastern region of Romania. *Farmácia* **2014**, *62*. [[Link](#)]
- Scurra, A.; Shiner, C. T.; Stevens, J. A.; Faux, S. G. Regional nerve blockade for early analgesic management of elderly patients with hip fracture-a narrative review. *Anaesthesia* **2017**, *76*. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
- Riccitoli, E.; Fitzgerald, G. A.; Prostaglandins and Inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* **2011**, *31*, 986. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
- Cruvinel, W. de M.; Mesquita Júnior, D.; Araújo, J. A. P.; Catelan, T. T. T.; de Souza, A. W.; da Silva, N. P.; Andrade, L. E. C.; Sistema Imunitário: Parte I. Fundamentos Da Imunidade Inata Com Ênfase Nos Mecanismos Moleculares e Celulares Da Resposta Inflamatória. *Revista Brasileira de Reumatologia* **2010**, *50*, 434. [[Crossref](#)]
- Santos, R. S.; Mota, L. H. S.; Marques, B. C.; Reis, L. B.; Silva, C. F.; Lima, D. A. C.; Albuquerque, W. A.; Deiró, L. R.; Amor, A. L. M.; Uso regular de plantas medicinais para fins terapêuticos em famílias residentes na zona rural de Santo Antônio de Jesus – Bahia – Brasil. *Journal of Health & Biological Sciences* **2017**, *5*, 364. [[Crossref](#)]
- Guerra, R.; Gómez, L. J.; Castillo, U. I. G.; Toloza, G.; Sánchez-Pérez, J. P.; Avalos, N.; Mejía, J. G.; Núñez, M. J.; Moreno, M. A.; Efecto analgésico, caracterización fitoquímica y análisis toxicológico del extracto etanólico de hojas de *Pereskia lychnidiflora*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* **2018**, *35*, 581. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
- Rodrigues, E.; Duarte-Almeida, J. M.; Pires, J. M.; Perfil Farmacológico e Fitoquímico de Plantas Indicadas Pelos Caboclos Do Parque Nacional Do Jaú (AM) Como Potenciais

- Analgésicas: Parte I. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2010**, *20*, 981. [Crossref]
14. Martins, J.; Brijesh, S.; Phytochemistry and Pharmacology of Anti-Depressant Medicinal Plants: A Review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2018**, *104*, 343. [Crossref][PubMed]
 15. Ministério da Saúde; Monografia da Espécie *Plantago major* L. (Tanchagem). Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br>>. Acesso em: 20 dezembro 2021.
 16. Trindade, G. O.; Alves, V. H.; Mariño, P. A.; Maldaner, G.; Triagem fitoquímica e avaliação do potencial antibacteriano de extratos das folhas de *Plantago major* L. *Revista de Iniciação Científica da Universidade Vale do Rio Verde* **2019**, *9*, 1. [Link]
 17. Yernazorova, K. B.; Abdrassulova, Z. H. T.; Tussupbekova, G. A.; Salybekova, N. N.; Ysayev, G.; Basim, H.; Biological features of the medicinal plant *Plantago major* L. *International Journal of Biology and Chemistry* **2017**, *12*, 86. [Crossref]
 18. Ventura, P. A. O.; Jesus, J. P. O.; Nogueira, J. R. de S.; Galdos-Riveros, A. C.; Análise fitoquímica e avaliação da susceptibilidade antimicrobiana de diferentes tipos de extratos de *Plantago major* L. (Plantaginaceae). *Infarma - Ciências Farmacêuticas* **2016**, *28*, 33. [Crossref]
 19. Alizadeh, B. B.; Yazdi, F. T.; Shahidi, F.; Hesarinejad, M. A.; Mortazavi, S. A.; Mohebbi, M.; *Plantago major* seed mucilage: Optimization of extraction and some physicochemical and rheological aspects. *Carbohydrate Polymers* **2017**, *155*, 68. [Crossref][PubMed]
 20. Spezia, F. P.; Siebert, D.; Tenfen, A.; de Cordova, C. M. M.; Alberton, M. D.; Avaliação da atividade antibacteriana de plantas medicinais de uso popular: *Alternanthera brasiliana* (penicilina), *Plantago major* (tansagem), *Arctostaphylos uva-ursi* (uva-ursi) e *Phyllanthus niruri* (quebra-pedra). *Revista Pan-Amazônica de Saúde* **2020**, *11*. [Crossref]
 21. Veiga Junior, V. F.; Pinto, A. C.; Maciel, M. A. M.; Plantas medicinais: cura segura. *Química Nova* **2005**, *28*, 519. [Crossref]
 22. Cabrera-Jaime, S.; Martínez, C.; García, T. F.; Giner-Boya, P.; Icart-Isern, T.; Estrada-Masllorens, J. M.; Fernández-Ortega, P.; Efficacy of *Plantago major*, chlorhexidine 0.12% and sodium bicarbonate 5% solution in the treatment of oral mucositis in cancer patients with solid tumour: a feasibility randomised triple-blind phase III clinical trial. *European Journal of Oncology Nursing* **2018**, *32*, 40. [Crossref][PubMed]
 23. Samuelson, A. B.; The Traditional Uses, Chemical Constituents and Biological Activities of *Plantago major* L. A Review. *Journal of Ethnopharmacology* **2000**, *71*, 1. [Crossref][PubMed]
 24. Matos, F. J. A.; *Plantas medicinais: guia de seleção e emprego das plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil*, 3a.ed., Imprensa Universitária: Fortaleza, 2007.
 25. Arslan, R.; Bektas, N.; Ozturk, Y.; Antinociceptive activity of methanol extract of fruits of *Capparis ovata* in mice. *Journal of Ethnopharmacology* **2010**, *131*, 28. [Crossref][PubMed]
 26. Rajan, J.; Behrends, M.; Acute pain in older adults: Recommendations for Assessment and Treatment. *Anesthesiology The Clinics* **2019**, *1*. [Crossref][PubMed]
 27. Liu, L. W.; Lu, J.; Wang, X. H.; Fu, S. K.; Li, Q.; Lin, F. Q.; Neuronal apoptosis in morphine addiction and its molecular mechanism. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* **2013**, *6*, 540. [PubMed]
 28. Luo, W.; Deng, Z. H.; Li, R.; Cheng, G.; Kotian, R. N.; Li, Y. S.; Li, W. P.; Study of analgesic effect of earthworm extract. *Bioscience Reports* **2017**, *1*. [Crossref] [PubMed]
 29. Jamilah, J.; Shafira, A. A.; Sharifah, N. R. S. A.; GC-MS Analysis of Various Extracts from Leaf of *Plantago major* Used as Traditional Medicine. *Scopus* **2012**, *67*. [Crossref]
 30. Quirino, D. S.; Matamoros, E. P.; Machado, V. K. A.; Viabilidade do Brasil em produzir fármacos com auxílio da tecnologia e inovação. *Proceeding of ISTI/SIMTEC* **2018**, *9*, 295. [Crossref]
 31. Zubair, M.; Nybom, H.; Lindholm, C.; Brandner, J. M.; Rumpunen, K.; Promotion of wound healing by *Plantago major* L. leaf extracts—*ex vivo* experiments confirm experiences from traditional medicine. *Natural Product Research* **2015**, *5*, 622. [Crossref][PubMed]
 32. Machado, S. T. de S.; Batista, P. R.; de Sousa, J. P.; Rosa, A. G. da S.; Depoimentos sociais de moradores da comunidade Santo Antônio (Barbalha – Ceará) sobre o uso de plantas medicinais no tratamento da dor. *Ethnoscintia* **2021**, *6*, 1. [Crossref]
 33. Trindade, G. O.; Alves, V. H.; Mariño, P. A.; Maldaner, G.; Menezes, A. P. S.; dos Reis, R. O.; Triagem fitoquímica e avaliação do potencial antibacteriano de extratos das folhas de *Plantago major* L. *Revista de Iniciação Científica da Universidade Vale do Rio Verde* **2019**, *9*, 41. [Link]
 34. Sousa, R. F. S.; Sousa, J. A. S.; Metabólicos secundários associados a estresse hídrico e suas funções nos tecidos vegetais. *Revista Brasileira de Gestão Ambiental* **2017**, *11*, 1. [Crossref]
 35. Sousa, S. S.; Silva, J. A. G.; Oliveira, E. F.; Borba, E. F. O.; Sousa, M. G. O.; Silva, T. G.; Análise fitoquímica e efeito gastroprotetor do extrato hexânico de *Stemodia maritima* L. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management* **2021**, *17*, 456. [Link]
 36. Hammami, S.; Debbabi, H.; Jlassi, I.; Joshi, R. K.; Mokni, R. E.; Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil from the Aerial Parts of *Plantago afra* L. (Plantaginaceae) Growing Wild in Tunisia. *South African Journal of Botany* **2020**, *132*, 410. [Crossref]
 37. Al-Mazroa, S. A.; Al-Wahaibi, L. H.; Mousa, A. A.; Al-Khatlan, H. Z.; Essential Oil of Some Seasonal Flowering Plants Grown in Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry* **2015**, *8*, 212. [Crossref]
 38. Silva, F. C. O.; Ferreira, M. K. A.; Silva, A. W.; Matos, M. G. C.; Magalhães, F. E. A.; Silva, P. T.; Bandeira, P. N.; de Menezes, J. E. S. A.; Santos, H. S.; Bioactivities of plant-isolated Triterpenes: A brief review. *Revista Virtual de Química* **2020**, *12*, 234. [Crossref]
 39. Santos, R. S.; Mota, L. H. S.; Marques, B. C.; Reis, L. B.; Silva, C. F.; Lima, D. A. S.; Albuquerque, W. A.; Deiró, L. R.; Amor, A. L. M.; Uso regular de plantas medicinais para fins terapêuticos em famílias residentes na zona rural de Santo Antônio de Jesus – Bahia- Brasil. *Journal of Health nad Biological Sciences* **2019**, *5*, 354. [Crossref]
 40. Reis, C. M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Santa Maria, 2018. [Link]
 41. Guerrero, R. V.; Vargas, R. A.; Petricevich, V. L.; Analgesic effect of ethanolic extract of *Bougainvillea X Buttiana* (Var. Rose). *Biology* **2016**, *2*, 224. [Link]

42. Abdel-Gawad, K. M.; Hifney, A. F.; Fawzy, M. A.; Gomaa, M.; Technology optimization of chitosan production from *Aspergillus niger* biomass and its functional activities. *Food Hydrocolloids* **2017**, *63*, 593. [[Crossref](#)]
43. Takahashi, C.; Kikuchi, N.; Katou, N.; Miki, T.; Yanagida, F.; Umeda, M.; Possible Anti-Tumor-Promoting Activity of Components in Japanese Soybean Fermented Food, Natto: Effect on Gap Junctional Intercellular Communication. *Carcinogenesis* **1995**, *16*, 471. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
44. Chakraborty, A. K.; Gaikwad, A. V.; Singh, K. B.; Phytopharmacological review on *Acanthospermum hispidum*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **2012**, *2*, 144. [[Link](#)]
45. Peluso, I.; Serafini, M.; Antioxidants from black and green tea: from dietary modulation of oxidative stress to pharmacological mechanisms. *British Journal of Pharmacology* **2017**, *174*, 1195. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
46. Moreira, D. L.; Siqueira, M. R. P.; Amaral, T. M.; Candido, F. S.; Atividade larvicida de extratos, frações e substâncias isoladas de espécies de Piperaceae do Estado do Rio de Janeiro. *Boletim Informativo Geum* **2014**, *5*, 35. [[Link](#)]
47. Komakech, R.; Kim, Y.; Matsabisa, G. M.; Kang, Y.; Anti-Inflammatory and Analgesic Potential of *Tamarindus indica* Linn. (Fabaceae): A Narrative Review. *Integrative Medicine Research* **2019**, *8*, 3, 181. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
48. Adom, M. B.; Taher, M.; Mutalabisin, M. F.; Amri, M. S.; Kudos, M. B. A.; Sulaiman, M. W. A. W.; Sengupta, P.; Susanti, D.; Chemical Constituents and Medical Benefits of *Plantago major*. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2017**, *96*, 348. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
49. Chiang, L. C.; Chiang, W.; Chang, M. Y.; Ng, L.T.; Lin, C. C.; Antiviral Activity of *Plantago major* Extracts and Related Compounds *in vitro*. *Antiviral Research* **2002**, *55*, 53. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
50. Atta, A. H.; Mouneir, S. M.; Evaluation of some medicinal plant extracts for antidiarrhoeal activity. *Phytotherapy Research* **2005**, *19*, 481. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
51. Oliveira, M. A.; Barreto, A. A. O.; Quintans-Júnior, L. J.; Guimarães, A. G.; Aplicação de terpenos como agentes analgésicos: uma prospecção tecnológica. *Revista Geintec-Gestão Inovação E Tecnologias* **2014**, *4*, 1292. [[Crossref](#)]
52. Ferraz, C. R.; Carvalho, T. T.; Manchope, M. F.; Artero, N. A.; Rasquel-Oliveira, F. S.; Fattori, V.; Casagrande, R.; Verri Jr., W. A.; Therapeutic Potential of Flavonoids in Pain and Inflammation: Mechanisms of Action, Pre-Clinical and Clinical Data, and Pharmaceutical Development. *Molecules* **2020**, *25*, 762. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]
53. Borghi, S. M.; Mizokami, S. S.; Pinho-Ribeiro, F.; Fattori, V.; Crespigio, J.; Clemente-Napimoga, J. T.; Napimoga, M. H.; Pitol, D. L.; Issa, J. P. M.; Fukada, S. Y.; Casagrande, R.; Verri Jr, W. A.; The Flavonoid Quercetin Inhibits Titanium Dioxide (TiO₂)-Induced Chronic Arthritis in Mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **2018**, *53*, 81. [[Crossref](#)][[PubMed](#)]