



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DO PARÁ – FACIMPA TRABALHO DE
CONCLUSÃO DE CURSO – TCC I

Débora Soares Menezes da Silva
Emilly Cristina do Carmo Lima
Emilly Nicole Silva Xavier
Marcos Wictor Santos Rosa

**AVALIAÇÃO DA CRISINA E FLAVONA RELACIONADOS COMO MOLÉCULAS
DE POTENCIAL ANSIOLÍTICO EM ENSAIOS COMPORTAMENTAIS EM
ZEBRAFISH (*Danio rerio*)**

**Marabá/PA
2024**

Débora Soares Menezes da Silva
Emilly Cristina do Carmo Lima
Emilly Nicole Silva Xavier
Marcos Wictor Santos Rosa

**AVALIAÇÃO DA CRISINA E FLAVONA RELACIONADOS COMO MOLÉCULAS
DE POTENCIAL ANSIOLÍTICO EM ENSAIOS COMPORTAMENTAIS EM
ZEBRAFISH (*Danio rerio*)**

Projeto de Pesquisa apresentado à Faculdade de Ciências Médicas do Pará - FACIMPA, em atendimento aos requisitos obrigatórios para aprovação no Módulo de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientadora: Ma. Bruna Patrícia Dutra da Costa.
Co-orientador: Esp. Leonardo Miranda Feitosa.

**Marabá/PA
2024**

RESUMO

Os flavonoides são compostos que apresentam novas alternativas farmacológicas. O flavonoide crisina (5,7-diidroxiflavona) tem sido estudado por suas propriedades antioxidantes e devido às suas ações neuro farmacológicas produzidas em estruturas cerebrais específicas, implicadas também em distúrbios neuropsiquiátricos, com evidências pré-clínicas de que este mesmo também possui efeitos ansiolíticos.. O uso do peixe *Danio rerio*, também conhecido como paulistinha ou zebrafish, tem aumentado em pesquisas pré-clínicas no campo da psicofarmacologia. Em vista disso, o objetivo do presente estudo foi comparar os efeitos ansiolíticos dos flavonoides crisina e flavona em zebrafish adultos. A pesquisa implica testar os efeitos ansiolíticos de dois flavonoides crisina e flavona, utilizando zebrafish adultos (*Danio rerio*) para os testes comportamentais, como teste de preferência claro/escuro e distribuição vertical eliciada pela novidade (DVEN), contribuindo para identificar se os efeitos do tipo ansiolítico produzidos pela crisina e flavona são devidos à presença de radicais hidroxila em sua estrutura, o que poderia favorecer o design específico de novas moléculas destinadas à farmacoterapia da ansiedade, testando, portanto, os efeitos ansiolíticos em comparação dos dois flavonoides crisina e flavona utilizando zebrafish adultos.

Palavras-chave: Ansiedade. Crisina. Flavona. Zebrafish.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	OBJETIVOS	10
2.1	Erro! Indicador não definido.	
2.2	Erro! Indicador não definido.	
3	REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1	13	
3.2	Erro! Indicador não definido.11	
3.3	14	
4	METODOLOGIA	14
4.1	16	
4.2	17	
4.3	17	
4.4	17	
4.5	17	
4.6	17	
4.7	19	
4.8	20	
4.8.1	Riscos.....	18
4.8.2	20	
4.9	Desfechos.....	18
4.9.1	Primários.....	18
4.9.2	Secundários.....	18
5.	CRONOGRAMA	19
6.	ORÇAMENTO	20
	REFERÊNCIAS	21

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 - Cronograma18
TABELA 02 - Orçamento19

LISTA DE ABREVIÇÕES

BZD	Benzodiazepínicos
DVEN	Distribuição vertical elicidada pela novidade
GABA	Ácido gamaaminobutílico
DBCA	Diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos
DMSO	Dimetilsulfóxido

1. INTRODUÇÃO

O tratamento da ansiedade baseia-se no uso de benzodiazepínicos, que são moduladores alostéricos positivos do receptor GABAA, porém essas drogas podem produzir diversos efeitos colaterais como sedação, relaxamento muscular e amnésia (GRIFFIN *et al.*, 2013).

Diante disso, novas alternativas farmacológicas que podem não apresentar os efeitos adversos dos benzodiazepínicos têm sido buscadas em nível pré-clínico. Entre as principais propostas estão os flavonoides, um grupo de metabólitos secundários encontrados em plantas que desempenham diversas funções protetoras (MARDER *et al.*, 1996).

Eles são compostos polifenólicos presentes em diversas plantas e têm sido considerados nutracêuticos por fazerem parte da dieta humana (Marventano *et al.*, 2017) e por produzirem diversas ações farmacêuticas. Além disso, eles são capazes de cruzar a barreira hematoencefálica e modificar a função cerebral (*et al.*, 2015).

O flavonoide crisina (5,7-diidroxiflavona) tem sido estudado por suas propriedades antioxidantes (Siddiqui *et al.*, 2018) e, atualmente, também, devido às suas ações neurofarmacológicas produzidas em estruturas cerebrais específicas implicadas em distúrbios neuropsiquiátricos (Filho *et al.*, 2016; Bortolotto *et al.*, 2018).

Já a crisina é um flavonoide natural presente no mel, própolis e diversos extratos vegetais (German-Ponciano *et al.*, 2018), e é um dos nutracêuticos polifenólicos mais estudados (Chadha *et al.*, 2017). Também há evidências pré-clínicas de que esse flavonoide exerce efeitos do tipo ansiolítico (Wolfman *et al.*, 1994; Salgueiro *et al.*, 1997; Zanolli *et al.*, 2000; Rodríguez-Landa *et al.*, 2019).

Nessa perspectiva, o potencial da crisina para atuar como eliminador de radicais livres foi atribuído à presença desses grupos hidroxila⁽¹⁴⁾, e foi sugerido que este grupo funcional representa o principal sítio de ação deste flavonóide para produzir uma grande variedade de potenciais efeitos terapêuticos a fim de melhorar diversos distúrbios fisiológicos e psiquiátricos (Sheela & Augusti, 1995).

No entanto, nenhum estudo comparou diretamente os efeitos de doses semelhantes de crisina e da estrutura de flavona flavona sobre os efeitos terapêuticos potenciais relatados na pesquisa pré-clínica.

A Crisina (é isolada de *Passiflora Caerulea*, *Passiflora incarnata*, *Matricaria Chamomilla* ou como uma droga sintética) exerce efeitos semelhantes aos ansiolíticos por meio da ação nos receptores GABA_A sem os efeitos colaterais associados (ou seja, sedação, amnésia, miorelaxamento) que foram atribuídos a outro GABA_A moduladores (benzodiazepinas, etanol,

etc.). Esses efeitos foram avaliados em modelos comportamentais usando roedores (Wolfman et al., 1994; Salgueiro et al., 1997; Zanolli et al., 2000; Rodríguez-Landa et al., 2019).

Embora tenha sido sugerido que a presença de grupos hidroxila na estrutura da crisina seja a responsável por essa ação farmacológica, tal efeito há comparação com os efeitos produzidos pela flavona em modelos pré-clínicos de comportamento semelhante à ansiedade.

O uso do peixe *Danio rerio*, também conhecido como paulistinha ou zebrafish, tem aumentado em pesquisas pré-clínicas no campo da psicofarmacologia. Há ensaios biocomportamentais de ansiedade e testes de triagem para efeitos semelhantes aos ansiolíticos que foram adaptados para zebrafish (Maximino *et al.*, 2010a).

Além disso, pesquisas comportamentais utilizando o zebrafish avaliaram os efeitos de drogas ansiolíticas clinicamente eficazes, incluindo benzodiazepínicos (Bencan et al., 2009; Gebauer et al., 2011; Maximino et al., 2011; Schaefer et al., 2015) e ligantes de ambos os sítios BZD centrais e periféricos (Lima-Maximino et al., 2018). Há um crescimento nas investigações para identificar os potenciais ansiolíticos, com o desenvolvimento de ensaios comportamentais para drogas psicoativas em zebrafish, desencadeando a compreensão dos mecanismos "centrais" das funções comportamentais como medo e ansiedade, que são alterados em pacientes humanos e compartilhados entre peixes, roedores e humanos (GERLAI, 2014).

Assim, o objetivo do presente estudo foi comparar os efeitos ansiolíticos dos flavonóides crisina e flavona em zebrafish adultos, contribuindo para identificar se os efeitos do tipo ansiolítico produzidos pela crisina e flavona são devidos à presença de radicais hidroxila em sua estrutura, o que poderia favorecer o *design* específico de novas moléculas destinadas à farmacoterapia da ansiedade.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar os mecanismos de ação dos possíveis efeitos ansiolíticos do flavonoide crisina e da flavona em zebrafish (*Danio rerio*) adulto.

2.2 Objetivos específicos

- Investigar os efeitos do flavonoide crisina e da flavona em zebrafish em testes comportamentais de triagem (*screening*) para efeitos tipo-ansiolítico;
- Descrever as características do transtorno de ansiedade;
- Caracterizar os efeitos psicomotores da crisina e da flavona em zebrafish;
- Estabelecer curva dose-resposta para os efeitos comportamentais da crisina e da flavona em teste de preferência claro/escuro em zebrafish;
- Confirmar o efeito tipo-ansiolítico da crisina e da flavona no teste DVEN em zebrafish;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Transtorno de Ansiedade

Os problemas de saúde estão cada vez mais crescentes por conta das inúmeras pessoas acometidas com algum transtorno mental como, por exemplo, ansiedade, depressão e transtorno de bipolaridade. São problemas de saúde pública que podem causar diversos sintomas e complicações no indivíduo. A ansiedade é uma das mais prevalentes atualmente, havendo o crescimento de uma forma acelerada na população (ROTOLI *et al.*, 2019).

A ansiedade, de certa forma, é uma emoção que todo indivíduo sente de forma normal, quando vai apresentar um trabalho, ir ao médico, uma entrevista, entre outros. Porém, quando isso se torna excessivo a ponto de prejudicar atividades cotidianas, é necessário que haja o acompanhamento com o especialista para que possa realizar a análise e terapêutica adequada⁽¹²⁾. É importante que haja a identificação desse transtorno e que seja feita o alerta à população. A doença atinge pessoas que comumente têm preocupação em excesso, sofrem por antecipação, se cobram quando algo dá errado, não conseguem lidar com pressão e sempre vivem em cobrança, afetando a qualidade de vida⁽⁷⁾.

A ansiedade consiste em um transtorno mental que provoca diversas manifestações clínicas no indivíduo, tais como: preocupação, medo, inquietação e nervosismo. Desse modo, a ansiedade faz com que o indivíduo passe por diversos problemas que afetam as atividades cotidianas e as relações sociais⁽³⁾. Nisso, o indivíduo começa a apresentar reação emocional de apreensão e incerteza do futuro. Dessa forma, o transtorno de ansiedade faz com que a pessoa sempre fique em pensamentos acelerados que causam alteração no organismo. Isso ocorre por conta da sensação de medo e sensação de “luta” ou “fuga”⁽¹⁷⁾.

As manifestações clínicas de alguém com ansiedade variam de uma pessoa para outra, assim como o grau do transtorno. Dessa forma, a pessoa começa a apresentar inquietação, cefaleia, tensão muscular, taquicardia, dor no peito, alteração na respiração, suor nas mãos, tremores, fadiga e náuseas⁽²⁾. Por isso, quando há os sinais e sintomas de ansiedade, é importante a confirmação do diagnóstico, levando em conta o histórico e análise minuciosa para avaliar o grau do transtorno, como também considerar o planejamento de ações que irão minimizar os sintomas, direcionando para o tratamento correto⁽¹¹⁾.

Com isso, a terapêutica é realizada conforme com as manifestações clínicas do paciente, sendo usados ansiolíticos ajustados às doses de acordo com a prescrição médica. A terapêutica farmacológica comumente necessita ser mantida de seis meses a um ano até que sejam reduzidos os sinais e sintomas⁽¹²⁾. Uma das formas de tratamento medicamentoso é por meio

dos ansiolíticos, os quais apresentam o mecanismo de ação direcionado para aliviar e minimizar a agitação e tensão, reduzindo os sintomas da ansiedade ⁽⁶⁾. Entretanto, novas moléculas com potencial ansiolítico estão sendo investigadas.

3.2 Flavonoides

A descoberta das propriedades dos flavonoides foi no ano de 1930, quando houve o estudo das substâncias presentes na laranja, sendo isolados os componentes químicos delas. Nisso, foi identificada uma substância pertencente à família das vitaminas, mais tarde denominada flavonoides ⁽⁹⁾. Eles são estudados por apresentarem seletividade para os receptores GABAA e ensaios de ligação da membrana cerebral. Nisso, são diminuídas as manifestações características da ansiedade e seus efeitos indesejados ⁽¹⁵⁾.

Estudos mostram que os flavonóides apresentam atividades farmacológicas que atuam no sistema nervoso central, alterando vias importantes no que diz respeito a muitos transtornos psiquiátricos, e assim compreendem uma fonte promissora de compostos com atividades ansiolíticas e potencial elevado para serem testados na clínica com foco no tratamento dos transtornos de ansiedade ⁽⁶⁾.

Por isso, há a busca por estudos na comunidade científica para cada vez mais identificar componentes que possam beneficiar e trazer saúde ao ser humano, reduzindo diversas doenças e prevenindo agravos por meio do mecanismo de ação dessas substâncias e suas propriedades ⁽¹⁰⁾.

3.3 Crisina e flavona como moléculas potencialmente ansiolíticas

A Crisina é um flavonoide identificado na *Passiflora caerulea*, que é uma planta da mesma família que o maracujá. Desse modo, é recomendada por apresentar resultado ansiolítico, apresentando benefícios para que haja a redução dos sintomas. A crisina possui ação terapêutica, sendo essencial para os efeitos antioxidante, ansiolítico e antidepressivo ⁽¹⁸⁾.

Possui efeito inibidor da aromatase, que também tem ação que ajuda regular os hormônios no organismo, além de efeito antioxidante e que reduz os índices de ansiedade. Tem sido usado para as pessoas com transtorno de ansiedade para que a pessoa possa apresentar melhora e com isso, haja a qualidade de vida ⁽¹⁰⁾.

Já a flavona tem sido bastante utilizada pelo fato de ser uma substância natural com alto potencial terapêutico. É um dos flavonoides localizados em plantas do gênero *Cannabis*, que

possui efeito medicinal. Enquanto flavonoide, a flavona colabora para desenvolver a coloração e o sabor de diferentes espécies ⁽¹⁵⁾. A flavona é preconizada para as ações que tenham efeitos antioxidantes e anti-inflamatórias. Também tem efeitos que ajudam nos mensageiros químicos e começa a aliviar a insônia e redução da ansiedade, trazendo melhorias ao indivíduo acometido por esse problema ⁽¹⁴⁾.

Atualmente, há vários estudos sobre a flavona e suas substâncias e a associação com efeitos que foram fundamentais para a qualidade de vida das pessoas, sobretudo, por conta do seu efeito tranquilizante que é essencial para o tratamento dos sintomas de ansiedade, o que faz com que seja associado aos demais métodos⁽⁸⁾.

4. METODOLOGIA

A pesquisa implica testar os efeitos ansiolíticos de dois flavonoides crisina e flavona utilizando zebrafish adultos (*Danio rerio*) (Figura 2) para os testes comportamentais, como teste de preferência claro/escuro e DVEN.



Figura 2: Imagem de *Danio rerio* adulto, fenótipo longfin.
Imagem de *Danio rerio*. Fonte: Splice (2023).

4.1 Desenho do Estudo / Tipo de Estudo

O projeto consiste em uma pesquisa científica em laboratório, com caráter experimental, utilizando o zebrafish como modelo animal para os testes comportamentais.

4.2 População de estudo

Foram utilizados 48 zebrafish adultos não sexados do fenótipo *longfin* nos presentes experimentos. Os animais foram adquiridos em uma loja de aquários de Rio de Janeiro (Brasil) e mantidos em tanques coletivos no Laboratório de Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas do Pará – FACIMPA, Nova Marabá, Marabá Pará. por pelo menos duas semanas antes do início dos experimentos. As condições no tanque de manutenção foram mantidas estáveis, conforme descrito por Lawrence (2007) e registradas em protocolos.io (Maximino et al., 2019).

4.3 Critérios de Inclusão

Foram utilizados apenas zebrafish adultos (*Danio rerio*) do fenótipo *longfin* em todos os testes comportamentais.

4.4 Critérios de Exclusão

Foram excluídos dos os zebrafish adultos (*Danio rerio*) do fenótipo *leopard* e *shortfin*.

4.5 Local e Período do Estudo

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas do Pará – FACIMPA, Nova Marabá, Marabá Pará.. E o período de realização dos experimentos foi em maio de 2024.

4.6 Procedimentos para a Coleta de Dados

A dose de crisina (CAS # 480-40-0; Sigma-Aldrich, C80105) e Flavona foram dissolvidas em 10% dimetilsulfóxido (DMSO) e injetados intraperitoneal (i.p.) (Kinkel et al., 2010) em cada zebrafish uma quantidade de 5 microlitros. Para ambos os flavonoides, foi utilizada a dose 1 mg/kg, uma dose de crisina que demonstrou ser ansiolítica em labirinto em cruz elevado em ratos e zebrafish (Wolfman et al., 1994; German-Ponciano et al., 2020). A

ordem com a qual os grupos foram testados foi randomizada por meio da geração de números aleatórios usando a ferramenta de randomização em <http://www.randomization.com/>. Foram realizados dois testes comportamentais, como teste de preferência claro/escuro e teste DVEN.

Teste claro/escuro

O ensaio de preferência claro/escuro (escotaxia) foi realizado conforme descrito em outro lugar (Maximino, 2018 [<https://10.17504/protocols.io.srfed3n>]; Maximino et al., 2010b). Resumidamente, 30 minutos após a injeção, os animais foram transferidos individualmente para o compartimento central de um tanque preto/branco (15 cm de altura X 10 cm de largura X 45 cm de comprimento) por um período de aclimação de 3 minutos, posteriormente, as portas que delimitam este compartimento foram removidas e o animal foi autorizado a explorar livremente o aparelho por 15 min. Enquanto, todo o tanque experimental foi iluminado de cima por uma fonte de luz homogênea, devido à refletividade das paredes do aparelho e a iluminação média do piso (medida logo acima da linha de água), e deve medir três medidas de luz acima do compartimento preto (média \pm DP) lux, e do compartimento branco (média \pm DP) lux. As seguintes variáveis foram registradas:

1. *Tempo gasto no compartimento branco*: o tempo gasto no branco metade do (s) tanque (s);
2. *Transições para branco*: o número de entradas no compartimento branco feitas pelo animal ao longo da sessão;
3. *Duração da entrada*: a duração média de uma entrada (tempo no branco/transições);

4. *Natação errática*: definida como o número de comportamentos de natação em zigue-zague, rápidos e imprevisíveis de curta duração;
5. *Congelamento*: a duração do (s) evento (s) de congelamento, definido como a cessação completa dos movimentos, com exceção dos movimentos dos olhos e do opérculo;
6. *Tigmotaxia*: a duração do (s) evento (s) timotáxico (s), definido como nadar a uma distância de 2 cm ou menos das paredes do compartimento branco;
7. *Frequência de avaliação de risco*: definida como uma entrada rápida (<1 s) no compartimento branco seguida por reentrada no compartimento preto, ou como uma entrada parcial no compartimento branco (ou seja, a barbatana peitoral não atravessa o linha média);

Uma câmera de vídeo digital foi instalada acima do aparelho para registrar a atividade comportamental do zebrafish. Dois observadores independentes, cegos para o tratamento, mediram manualmente as variáveis comportamentais usando o X-Plo-Rat 2005 (<https://github.com/lanec-unifesspa/x-plo-rat>) e pelo TheRealFishTracker (toronto.edu). A confiabilidade interobservadora foi de pelo menos > 0,95.

Teste da distribuição vertical eliciada pela novidade (DVEN)

O teste DVEN avalia o comportamento do zebrafish em ambientes novos, sendo baseado na geotaxia - um comportamento de “mergulho” de fuga inata, observando a tendência em permanecer no fundo do aquário, no entanto, esse comportamento é habitado ocorrendo uma gradativa exploração pelo aparato (KYSIL et al., 2017). O teste foi gravado por 5 minutos para a análise comportamental do zebrafish.

4.7 Análise de Dados

Os dados Foram analisados usando Testes de Independência Geral Assintótica, um análogo baseado em permutação de ANOVA unilateral, seguido por testes de permutação em pares, análogos a teste t em pares com valores de p ajustados para a taxa de descoberta falsa. As análises Foram feitas em R (R Core Team, 2019), usando o pacote ‘moeda’ (Hothorn et al., 2006). A normalidade não foi presumida e, portanto, nenhum teste específico de normalidade foi realizado. No entanto, esse tipo de análise é resistente a desvios dos pressupostos da ANOVA de mínimos quadrados ordinários tradicional e é robusta a outliers, sendo insensível a

pressupostos distributivos (como normalidade) (Mangiafico, 2015).

4.8 Aspectos Éticos

As recomendações da legislação brasileira (Diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos - DBCA. Anexo I. Peixes isolados em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica, 2017), foram seguidas para garantir os princípios éticos no cuidado com animais ao longo de experimentos.

4.9 Riscos

Pode acontecer de ter morte dos zebrafish durante o experimento, porém sempre se utiliza de técnica segura para garantir o bem estar dos animais (são anestesiados em gelo, 12 °C). E o flavonóide flavona pode apresentar potencial ansiogênico nos testes comportamentais em zebrafish adulto.

4.10 Benefícios

A pesquisa pode proporcionar dados dos efeitos ansiolíticos do flavonoide flavona em comparação aos efeitos da crisina em zebrafish adultos, proporcionando o entendimento em modelos pré-clínicos de comportamento semelhante à ansiedade. Assim, esses flavonóides podem apresentar capacidade ansiolíticas para o desenvolvimento de novos fármacos.

4.11 Desfechos

4.11.1 Primários(s)

Investigando os mecanismos de ação dos possíveis efeitos ansiolíticos do flavonoide crisina e da flavona em zebrafish (*Danio rerio*) adulto, foi importante para o desenvolvimento de novas técnicas para mitigar esses efeitos.

4.11.2 Desfechos Secundário(s)

Conhecendo os efeitos dos flavonoides crisina e da flavona em zebrafish em testes comportamentais de triagem (*screening*) para efeitos tipo-ansiolítico, foi de extrema importância para desenvolver novos fármacos fitoterápicos para a diminuição da ansiedade.

CRONOGRAMA

Ações	2023									2024							
	abr	mai	jun	jul	ago	set	out	nov	dez	jan	fev	mar	abr	maio	jun	julout	ago
Construção do Projeto de Pesquisa	x	x	x				x			x	x	x	x				
Cadastrar na Plataforma Brasil													x				
Compra de animais													x				
Realização dos experimentos													x				
Transcrição dos vídeos														x			
Análise dos dados														x	x	x	x
Levantamento bibliográfico	x	x	x	x					x	x	x	x	x	x	x		
Revisão da literatura e manuscrito														x	x	x	x
Submissão revista																	x
Entrega do relatório final para o CEP																	x
Avaliações															x		

Os pesquisadores se comprometem a iniciar a pesquisa somente após aprovação pelo Comitê de Ética.

ORÇAMENTO

DESCRIÇÃO	Valor Unitário (R\$)	Quantidade	Total
Aquário claro/escuro (acrílico)	600,00	01	600,00
Microseringa-GC 701N, vol 10µL, agulha fixa, ponta 2, calibre 26s 80300	200,00	01	200,00
manta acrílica + carvão ativado + tela	50,00	4	200,00
Kit de testes para qualidade da água	250,00	01	250,00
Peixes adultos + frete + isopor	4,00	300,00	1.600,00
Bombas submersas	80,00	4	320,00
Ração para peixe	3,00	10 kg	300,00
Vasilha para filtro	5,00	5	25,00
Caixas organizadoras para usar como aquários	115	4	460,00
Aquário de vidro (DVEN)	80,00	2	160,0
TOTAL	-	-	4.115,00

As despesas Foram custeadas com recursos dos próprios pesquisadores.

REFERÊNCIAS

1. BIJANI, S. et al. Neuroprotective Effect of Apigenin on Depressive-Like Behavior: Mechanistic Approach. **Neurochemical Research**, v. 47, n. 3, p. 644–655, 27 out. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34705188/>>. Acesso em: 20 abr. 2023.
2. COELHO, M. DE M. F. et al. Sintomas de ansiedade e fatores associados entre profissionais de saúde durante a pandemia da COVID-19. **Cogitare Enfermagem**, v. 27, p. 11-28, 2022. cc <<https://www.scielo.br/j/cenf/a/m3Qg369ySkkGyqJctdqmdCt/#ModalHowcite>>. Acesso em: 20 maio 2023.
3. COSTA, C. O. et al. Prevalência de ansiedade e fatores associados em adultos. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 68, n. 2, p. 92–100, abr. 2019. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/jbpsiq/a/PSrDy4ZFSGDCzNgJfJwVRxz/?lang=pt#ModalHowcite>>. Acesso em: 20 maio 2023.
4. GREGORIC, A. Molecular biology and genetics, medicine: 1.]. Disponível em: <<https://www.splice-bio.com/understanding-neuroblastoma-with-fluorescent-zebrafish-genes/>>. Acesso em: 26 abr. 2023.
5. L.]. 18 jul. 2018. Disponível em: <<https://www.splice-bio.com/understanding-neuroblastoma-with-fluorescent-zebrafish-genes/>>. Acesso em: 26 abr. 2023.
6. LACERDA, D.C. et al. Flavonóides com atividade ansiolítica: mecanismos de ação e perspectivas de incorporação no manejo dos transtornos de ansiedade. **CNASPEC Pesq e Ensino**, v.1, s.n., p.1-12, 2019. Disponível em: <https://editorarealize.com.br/editora/anais/conapesc/2019/trabalho_ev126_md1_SA10_ID182_9_01072019064725.pdf>. Acesso em: 20 maio 2023.
7. LIMA JÚNIOR, J.A.F. et al. Terapias combinadas e alternativas para Transtorno de Ansiedade Generalizada na Atenção Primária: Uma revisão integrativa. **Rev Cient Mult Núcleo do Conhecimento**, v.5, n.2, p. 61-82, dez. 2020. Disponível em: <<https://www.nucleodoconhecimento.com.br/saude/combinadasealternativas>>. Acesso em: 20 maio 2023.
8. MARTINEZ, C.A. et al. Glicosídeo de flavona: um antioxidante do extrato das folhas de *Alchornea coelophylla*. **Univ. Sci.**, Bogotá, v. 21, n. 3, p. 247-257, dez. 2016. Disponível em <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012274832016000300247&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 20 maio 2023.
9. MERCÊS, Z.; SANTOS, J. C. COMPOSTOS BIOATIVOS - FLAVONÓIDES. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, v. 5, n. 2, p. 1 - 12, 6 mar. 2023. Disponível em: <<https://arqcientificosimmes.emnuvens.com.br/abi/article/view/548>>. Acesso em: 21 maio 2023.
10. MORAIS, S.M et al. Gênero *cryptostegia*: fitoquímica, atividades biológicas e aplicações industriais **Quim. Nova**, v. 44, n. 6, p.709-716, 2021 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170716>>. Acesso em: 21 maio 2023.
11. MOURA, D.O. et al. Tratamento para o transtorno da ansiedade generalizada por meio da prática do exercício físico: uma revisão sistemática. **Rev Cient Mult Núcleo do Conhecimento**. v.2, n.1, p. 31-48, abr. 2022. Disponível em: <<https://www.nucleodoconhecimento.com.br/saude/ansiedadegeneralizada>>. Acesso em: 20 maio 2023.
12. RIBEIRO, H. K. P. et al. Transtornos de ansiedade como causa de afastamentos laborais. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 44, p. 12-24, 2019. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbso/a/WfpQJQM7TSqLb7PWxW9Frwg/?lang=pt#ModalHowcite>>. Acesso em: 20 maio 2023.

13. ROTOLI, A.S. et al. Saúde mental na Atenção Primária: desafios para a resolutividade das ações. **Escola Anna Nery**, v.23, n.2, p.1-9, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/2177-9465-ean-2018-030309871890>>. Acesso em: 21 maio 2023.
14. SOUZA, P.S.O. et al. Taninos e flavonóides das flores de *eugenia uniflora*. **Quim. Nova**, v.45, n. 9, p.1083-1091, 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21577/0100>>. Acesso em: 21 maio 2023.
15. TORRES, D.S. et al. Influência do método extrativo no teor de flavonóides de *Cnidocolus quercifolius* e atividade antioxidante. **Química Nova**, v. 41, n. 7, p. 743–747, jul. 2018. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/ybzP4zpXxg8RTxV4bBJKcFm/?lang=pt#ModalHowcite>>. Acesso em: 21 maio 2023.
16. Understanding neuroblastoma with fluorescent zebrafish genes. **Splice Biol. Mol.** [S.].
17. VANZELER, M.L.A. Transtornos de ansiedade e avaliação psicológica: Instrumentos utilizados no Brasil. **Rev Cient Mult Núcleo do Conhecimento**, v.13, n.2, p. 100-120, out. 2020. Disponível em: <<https://www.nucleodoconhecimento.com.br/psicologia/instrumentos-utilizados>>. Acesso em: 20 maio 2023.
18. ZUCHETTO, M.J. et al. Crisina reverte comportamento ansioso induzido pelo hipotireoidismo em camundongos fêmeas. **SIAPÉ Pesq.**, v.1, s.n., p.1-12, 2019. Disponível em: <https://guri.unipampa.edu.br/uploads/evt/arq_trabalhos/12716/seer_12716.pdf>. Acesso em: 21 maio 2023.