

VANINE GOMES MOTA

**ESTUDOS PSICOFARMACOLÓGICOS de *Dioclea virgata*
(Rich.) Amshoff (FABACEAE) EM MODELOS ANIMAIS**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA
PROF. DELBY FERNANDES DE MEDEIROS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS**

**JOÃO PESSOA - PB
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

VANINE GOMES MOTA

**ESTUDOS PSICOFARMACOLÓGICOS de *Dioclea virgata*
(Rich.) Amshoff (FABACEAE) EM MODELOS ANIMAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Prof. Delby Fernandes de Medeiros da Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do grau de MESTRE EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS. Área de concentração: FARMACOLOGIA.

Orientador: Prof. Dr. Jacicarlos Lima de Alencar

Co-Orientadora: Prof.^a Dr.^a Liana Clébia Soares Lima de Moraes

**JOÃO PESSOA - PB
2008**

M917e Mota, Vanine Gomes.

Estudos psicofarmacológicos de *Dioclea virgata* (Rich.)
Amshoff (Fabaceae) em modelos animais / Vanine Gomes Mota. –
João Pessoa, 2008.

113p.

Orientador: Jacicarlos Lima de Alencar

Co-Orientador: Liana Clébia Soares L. Morais

Dissertação (mestrado) – UFPB/CCS

1. Farmacologia. 2. Plantas medicinais.
3. Psicofarmacologia.

UFPB/BC

CDU 615 (043)

VANINE GOMES MOTA

**ESTUDOS PSICOFARMACOLÓGICOS de *Dioclea virgata*
(Rich.) Amshoff (FABACEAE) EM MODELOS ANIMAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Prof. Delby Fernandes de Medeiros da Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do grau de MESTRE EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS. Área de concentração: FARMACOLOGIA.

Aprovado em: ____ de _____ de _____

BANCA EXAMINADORA:

**Prof. Dr. Jacicarlos Lima de Alencar
Orientador – UFPB**

**Prof. Dr. Fladmir de Sousa Claudino
Examinador externo – FAMENE**

**Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida
Examinador interno – UFPB**

**Prof.^a Dr.^a Liana Clébia Soares Lima de Morais
Suplente – UFPB**

*A Deus, e minha preciosa e amada família,
dedico.*

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, minha fortaleza, pela presença constante em todos os momentos da minha vida, e pela maravilhosa família que a mim foi concebida.

Ao meu esposo, **Samyr Youssef de V. Rabêlo Lemos** pelo imenso apoio, paciência, compreensão, amor e por preencher minha vida com muita felicidade.

Aos meus pais, **Humberto Carlos da Mota** e **Viviane Gomes Mota**, pelo amor incondicional, e por todos os valiosos ensinamentos responsáveis por tudo que sou hoje.

Aos meus irmãos, **Vinícius Gomes Mota** e **Vitor Gomes Mota**, pelo carinho, respeito e incentivo ao longo de toda minha vida.

As minhas cunhadas, **Emília Medeiros Mota** e **Samira Maria Almeida Mota**, por sempre me apoiarem.

A mais nova e linda integrante da família, **Ana Teresa Medeiros Mota**, pelo seu incomparável sorriso e profundo olhar, que transforma tudo em alegria e paz.

A toda família do meu esposo, em especial, **Clecy Vasconcelos Rabêlo**, **Moises Lemos**, a **Therezinha Rabêlo**, **Cley Rabêlo**, **Karenina Rabêlo**, e meu querido **Matheus Luciano Rabêlo**, por terem me apoiado ao longo de toda a caminhada.

Ao **Prof. Dr. Jacicarlos Lima de Alencar**, pela oportunidade, confiança, orientação, ensinamentos e por sempre me incentivar e acreditar na minha capacidade.

A **Prof.^a Dr.^a Liana Clébia Soares Lima de Moraes**, pelas valiosas e sábias orientações e imensa colaboração ao longo da realização deste trabalho, além de todo carinho, respeito, amizade e incentivo.

Ao **Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida**, por ter me aceitado como membro do laboratório de Psicofarmacologia de forma bastante acolhedora, permitindo a realização deste estudo, pelas orientações prestadas, e exemplo de ser humano tanto profissional como pessoalmente.

Ao **Prof. Dr. Bhattacharyya**, e seu doutorando **Marco Antônio Ventura**, por terem fornecido a fração clorofórmica da *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff.

Ao Coordenador do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, **Prof. Dr. José Maria Barbosa-Filho**, pela forma respeitosa e atenciosa como atende a todos os alunos.

A todos os professores do Curso de Pós-graduação, em especial, **Prof.^a Dr.^a Márcia R. Piuvezam, Prof.^a Dr.^a Bagnólia A. Silva, Prof.^a Dr.^a Temilce Simões** e **Prof. Dr. Emídio Vasconcelos**, pelos ensinamentos acadêmicos e apreciável dedicação.

As minhas amigas **Adriana Maria Fernandes, Anna Cláudia Tomaz, Daniele Serafim** e **Thayse de Lucena**, pelo imenso apoio, carinho, respeito e amizade prestadas em todos os momentos da minha vida.

A todos os amigos de turma do mestrado, em especial, **Aline Macêdo, Ethiene Estevam, Gabriela Lemos, Prof. Josemar Santos, Sócrates Golzio, Viviane Medeiros** pelo companheirismo e incentivo.

A todos que fazem parte do **laboratório de Psicofarmacologia** (André Pinho, Bruno Vinícius, Fernando Oliveira, Flávia Negromonte, Franklin Nóbrega, Guilherme Carneiro, Kildare Feitosa, Leandra Eugênia, Marilene Rocha, Naiana Gondim, Rubens Benedito) pela excelente recepção e auxílio durante a execução dos experimentos, e pelo compartilhamento de informações valiosas durante este estudo, em especial, as amigas Camila Carolina Santos, Marcela Rodrigues, Maria Clécia Sena e Maria Raquel Vitorino, que não mediram esforços para me ajudar, e me apoiar em todos os momentos.

Aos membros da **banca examinadora** por terem aceitado o convite e poderem contribuir para a versão final desta Dissertação.

A todos os **funcionários** do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica e a secretária da Pós-graduação **Tânia Maria Araújo**, pelos serviços prestados.

A **José Crispim Duarte, Luís Cordeiro da Silva e Adriano Silva**, pelo apoio técnico incondicional e indispensável à realização deste trabalho.

Ao **Biotério Prof. Dr. Thomas George do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica** pelo fornecimento dos animais.

Desejo também deixar demonstrado meu respeito a todos os animais utilizados durante a realização dos testes.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo apoio financeiro.

A **todos** que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho.

**“Em Ti, pois, confiam os que conhecem o teu nome, porque Tu, Senhor, não desamparas
os que te buscam”
Salmos 9:10**

RESUMO

Os produtos naturais incluindo as plantas medicinais têm, ao longo da história, se constituído como fonte principal para a obtenção de novas drogas com potencial efeito terapêutico. Inúmeros avanços em psicofarmacologia têm sido obtidos através de estudos experimentais comportamentais. Baseado na necessidade do desenvolvimento de novas alternativas farmacológicas que possam ser utilizadas para a ansiedade, epilepsia, e alívio da dor, o presente trabalho investigou possíveis efeitos psicofarmacológicos em modelos animais da Fração Clorofórmica de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff (FCDv). Na triagem farmacológica comportamental, para avaliar o possível efeito no SNC da FCDv, observou-se que os camundongos tratados apresentaram alterações comportamentais semelhantes às apresentadas por drogas que diminuem a atividade do SNC, tais como: diminuição da ambulação, resposta ao toque diminuída e sedação. Estabeleceu-se doses seguras para os testes subseqüentes com base nos resultados da triagem. As doses de 125 e 250 mg/kg induziram a uma diminuição na latência para início do sono, não alterando, no entanto, o tempo de sono. FCDv (125, 250 e 500 mg/kg) não reduziu o tempo de permanência dos animais na barra giratória (teste do *Rota Rod*) até os 120 minutos após as administrações. No teste do campo aberto, os animais tratados com a FCDv (250 mg/kg) apresentaram uma diminuição da ambulação e do comportamento de levantar ($25,8 \pm 4,2$) em relação ao controle ($43,4 \pm 4,7$), ocorreu também uma redução na defecação (FCDv 125 e 250 mg/kg), indicando atividade semelhante a drogas com perfis sedativo e ansiolítico; o tempo de auto-limpeza não sofreu alteração com as três doses testadas. FCDv (125, 250 e 500 mg/kg) não promoveu alterações significativas nos parâmetros latência para o início dos mergulhos, número de levantar, número de cruzamentos no teste da placa perfurada, entretanto, na dose de 250 mg/kg provocou uma diminuição no número de mergulhos ($24,1 \pm 2,9$; contra $33,1 \pm 2,3$ do controle), apresentando assim comportamento de droga sedativa. No teste das convulsões induzidas por pentilenotetrazol, a FCDv não foi capaz de prevenir ou aumentar a latência para início dos ataques convulsivos. A FCDv também não foi eficaz em prevenir ou reduzir a duração das convulsões tônicas induzidas pelo eletrochoque auricular. Na avaliação da atividade antinociceptiva, FCDv (125, 250 e 500 mg/kg) aumentou a latência para primeira contorção e diminuiu o número de contorções abdominais provocadas por ácido acético, com indicativo de uma atividade antinociceptiva. No teste da formalina, a FCDv (250 mg/kg) diminuiu o tempo de lambida da pata: $60,9 \pm 9,8$ s.; $12,3 \pm 10,4$ s.; na primeira e segunda fase do teste, respectivamente, em relação aos animais do grupo controle: $91,1 \pm 6,8$ s. e $213,3 \pm 51,6$ s., dando indicativo de atividade antinociceptiva que pode ser mediada tanto periféricamente como em nível de SNC. Portanto, a partir dos dados experimentais obtidos é possível inferir que a FCDv apresenta efeitos psicofarmacológicos sugestivos de droga psicoléptica, com promissora atividade do tipo sedativa, ansiolítica, e antinociceptiva.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Psicofarmacologia. *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff. Efeito ansiolítico. Efeito sedativo. Atividade antinociceptiva.

ABSTRACT

The natural products, that include medicinal plants, have been known as a principal source for the acquisition of new drugs with potential therapeutic effect throughout history. Many advances in psychopharmacology have been obtained from behavioral experimental studies. Based on the need for the development of new pharmacological alternatives that could be used for anxiety, epilepsy, and relief from pain, the present study investigated the possible psychopharmacological effects in animal models that could be provoked by Chloroformic Fraction of *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff (CFDv) treatment. In the behavioral screening pharmacology, to evaluate the possible effect in the CNS of CFDv, it was observed that treated mice showed behavioral changes similar to those effects caused by drugs that decrease the activity of the CNS, such as: reduction of the ambulation, decreased response to the touch and sedation. These results of screening let us to establish safe doses for subsequent tests. Doses of 125 and 250 mg/kg induced a decrease in sleep beginning latency, without changes in the time of sleep. CFDv (125, 250 and 500 mg/kg) did not reduce the time of permanence of the animals on the revolving bar (*Rota Rod* test) up to 120 minutes after the respective administrations. In the open field test, the animals treated with the CFDv (250 mg/kg) showed a reduction of the ambulation and rearing (25.8 ± 4.2) compared to the control (43.4 ± 4.7), there was also a reduction in defecation (CFDv 125 and 250 mg/kg), indicating a similar activity with drugs that possess sedative and anxiolytic profiles; there isn't any change in time of grooming with the three doses tested. CFDv (125, 250 and 500 mg/kg) not promoted significant changes in latency parameters for the beginning of head-dips, rearing or number of crossings in the hole-board test, however, at the dose of 250 mg/kg the fraction caused a decrease in the number of head-dips ($24.1 \pm 2, 9$; against 33.1 ± 2.3 control), thus presenting behavior effect as a sedative drug. The test of convulsions induced by pentilenotetrazol, CFDv was unable to prevent or increase the latency to onset of convulsive attacks. The CFDv was not effective in preventing or inhibiting the duration of tonic seizures induced by auricular electroshock. In the evaluation of the antinociceptive activity, CFDv (125, 250 and 500 mg/kg) increased the latency for first abdominal writhing and reduced the number of abdominal writhings caused by acetic acid, to bring into prominence its antinociceptive activity. In the formalin test, the CFDv (250 mg/kg) reduced the licking-time: 60.9 ± 9.8 s., 12.3 ± 10.4 s.; in the first and second phase of the test, respectively, in relation to the control group: 91.1 ± 6.8 s. and 213.3 ± 51.6 s., giving an indication of antinociceptive activity that can be mediated both peripherally and in level of CNS. Therefore, from the experimental data obtained in this research, it is possible to infer that the CFDv presents psychopharmacological effects suggestive of depressant drugs with promising anxiolytic-like action, sedative and antinociceptive activity.

Keywords: Medicinal plants. Psychopharmacology. *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff. Anxiolytic effect. Sedative effect. Antinociceptive activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Camundongo <i>Swiss</i> albino, em detalhe.....	40
Figura 02 - Aparelho de Rota-Rod.....	43
Figura 03 - Aparelho do campo aberto.....	43
Figura 04 - Aparelho da placa perfurada.....	44
Figura 05 - Aparelho de eletrochoque auricular.....	44
Figura 06 - Caixa de observação usada para o teste da formalina.....	45
Figura 07 - Aparelho pHmetro digital PG2000.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Alterações comportamentais em camundongos induzidas pelo tratamento com a FCDv.....	56
Tabela 2 – Percentual de ataques convulsivos e mortalidade observados nos camundongos tratados com veículo e com a FCDv durante o teste das quimioconvulsões induzidas por pentilenotetrazol.....	66
Tabela 3 – Percentual de ataques convulsivos tônicos e mortalidade observados nos camundongos tratados com veículo e com a FCDv durante o teste de convulsões induzidas por Eletrochoque auricular.....	67

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Efeito da FCDv sobre a latência para início do sono induzido por pentobarbital, em camundongos.....	57
Gráfico 2 – Efeito da FCDv sobre o tempo de sono induzido por pentobarbital, em camundongos.....	58
Gráfico 3 – Efeito da FCDv sobre a coordenação motora de camundongos no teste do Rota Rod, após 30 minutos da administração.....	58
Gráfico 4. Efeito da FCDv sobre a coordenação motora de camundongos no teste do Rota Rod, após 60 minutos da administração.....	59
Gráfico 5. Efeito da FCDv sobre a coordenação motora de camundongos no teste do Rota Rod, após 120 minutos da administração.....	60
Gráfico 6 – Efeito da FCDv sobre a ambulação, em camundongos submetidos ao aparelho do campo aberto por 5 minutos.....	61
Gráfico 7 – Efeito da FCDv sobre o tempo de auto- limpeza, em camundongos submetidos ao aparelho do campo aberto por 5 minutos.....	61
Gráfico 8 – Efeito da FCDv sobre o comportamento de levantar, em camundongos submetidos ao aparelho do campo aberto por 5 minutos.....	62
Gráfico 9 – Efeito da FCDv sobre a defecação (número de bolos fecais), em camundongos submetidos ao aparelho do campo aberto por 5 minutos.....	62
Gráfico 10. Efeito da FCDv no número total de mergulhos no teste da placa perfurada em camundongos.....	63
Gráfico 11. Efeito da FCDv na latência para o primeiro mergulho no teste da placa perfurada em camundongos.....	64
Gráfico 12. Efeito da FCDv no número de vezes do comportamento de levantar no teste da placa perfurada em camundongos.....	64
Gráfico 13. Efeito da FCDv no número de cruzamentos dos camundongos no teste da placa perfurada.....	65
Gráfico 14. Efeito da FCDv na latência para o animal entrar em convulsão durante o teste das convulsões induzidas quimicamente pelo PTZ em camundongos.....	66
Gráfico 15. Efeito da FCDv na duração da convulsão durante o teste de convulsões induzidas por Eletrochoque auricular, em camundongos.....	67

Gráfico 16. Efeito da FCDv na latência para o aparecimento de contorção abdominal no teste do ácido acético, em camundongos.....	68
Gráfico 17. Efeito da FCDv no número de contorções abdominais no teste do ácido acético, em camundongos.....	69
Gráfico 18 – Efeito da FCDv na 1ª fase do teste da formalina em camundongos tratados via i.p.....	70
Gráfico 19 – Efeito da FCDv na 2ª fase do teste da formalina em camundongos tratados via i.p.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

α -	Alfa
β -	Beta
μ -	Mu
5 - HT	5 – hidroxitriptamina ou Serotonina
AAS -	Ácido acetil salicílico
COX -	Ciclooxigenase
DL₅₀ -	dose letal 50%
e.p.m. -	Erro padrão da média
FCDv -	Fração Clorofórmica de <i>Dioclea virgata</i> (Rich.) Amshoff
GABA -	Ácido gama-aminobutírico
GABA_A -	Receptor tipo A do GABA
IMAOs -	Inibidores da Monoaminoxidase
i.p. -	Intraperitoneal
LTF -	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Prof. Delby Fernandes de Medeiros
MES -	Eletrochoque auricular máximo
min. -	Minuto
Na⁺ -	Íon Sódio
NMDA -	N-Metil-D-Aspartato
pH -	Potencial hidrogeniônico
PTZ -	Pentilenotetrazol
r.p.m. -	Rotações por minuto
seg. -	Segundo
SNC -	Sistema Nervoso Central
Tween 80 -	Polioxetileno Sorbitano Monoleato
UFPB –	Universidade Federal da Paraíba

OBS: As abreviaturas e os símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

I – INTRODUÇÃO.....	19
II – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	23
2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE PLANTAS MEDICINAIS.....	24
2.2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE FÁRMACOS PSICOTRÓPICOS..	27
2.3. CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA FABACEAE.....	31
2.3.1. Gênero <i>Dioclea</i>	35
III – OBJETIVOS.....	37
IV – MATERIAL.....	40
4.1. MATERIAL BOTÂNICO.....	40
4.2. ANIMAIS.....	40
4.2.1. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS.....	41
4.3. SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS.....	41
4.4. PREPARAÇÃO da FRAÇÃO CLOROFÓRMICA de <i>Dioclea virgata</i> (Rich.) Amshoff.....	42
4.5. APARELHAGEM.....	42
4.5.1. Aparelho utilizado para o teste da barra giratória <i>Rota-Rod</i>	42
4.5.2. Aparelho utilizado para o teste do campo aberto.....	43
4.5.3. Aparelho da placa perfurada (“Hole-board”).....	43
4.5.4. Aparelho de Eletrochoque (auricular).....	44
4.5.5. Caixa de observação para o teste da formalina.....	45
4.5.6. Aparelho pHmetro digital.....	45
V. MÉTODOS.....	46
5.1. TESTES PRELIMINARES.....	46

5.1.1. Testes de Solubilidade e Determinação do pH.....	46
5.1.2. Avaliação dos Efeitos Tóxicos.....	46
5.1.2.1. Triagem Farmacológica Comportamental.....	47
5.1.2.2. Determinação da DL ₅₀	47
5.2. TESTES GERAIS PARA INVESTIGAR A AÇÃO CENTRAL.....	48
5.2.1. Teste de Potencialização do Tempo de Sono Induzido pelo Pentobarbital Sódico.....	48
5.2.2. Teste da Barra Giratória <i>Rota Rod</i>	48
5.3. AVALIAÇÃO ESPECÍFICA DA ATIVIDADE NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL.....	49
5.3.1. Estudo da atividade ansiolítica e sedativa.....	49
5.3.1.1. Teste do Campo Aberto.....	49
5.3.1.2. O Teste da placa perfurada ou Hole Board.....	50
5.3.2. Estudo da atividade anticonvulsivante.....	51
5.3.2.1 Teste das Convulsões Induzidas pelo Pentilenotetrazol.....	51
5.3.2.2. Teste das Convulsões Induzidas Pelo Eletrochoque Auricular....	51
5.3.3. Estudo da atividade antinociceptiva.....	52
5.3.3.1. Teste das Contorções Abdominais induzidas por Ácido Acético.....	52
5.3.3.2. Teste da Formalina.....	53

5.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53
VI. RESULTADOS.....	54
6.1. TESTES PRELIMINARES.....	55
6.1.1. Testes de Solubilidade e Determinação do pH.....	55
6.1.2. Avaliação dos Efeitos Tóxicos.....	55
6.1.2.1. Triagem Farmacológica Comportamental.....	55
6.1.2.2. Determinação da Dose Letal 50%.....	57
6.2. TESTES GERAIS PARA INVESTIGAR A AÇÃO CENTRAL.....	57
6.2.1. Teste de Potencialização do Tempo de Sono Induzido pelo Pentobarbital Sódico.....	57
6.2.2. Teste da Barra Giratória <i>Rota Rod</i>.....	58
6.3. AVALIAÇÃO ESPECÍFICA DA ATIVIDADE NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL.....	60
6.3.1. Estudo da atividade ansiolítica e sedativa.....	60
6.3.1.1. Teste do Campo Aberto.....	60
6.3.1.2. O Teste da placa perfurada ou Hole Board.....	63
6.3.2. Estudo da atividade anticonvulsivante.....	65
6.3.2.1. Teste das Convulsões Induzidas pelo Pentilenotetrazol.....	65
6.3.2.2. Teste das Convulsões Induzidas Pelo Eletrochoque Auricular....	66
6.3.3. Estudo da atividade antinociceptiva.....	68
6.3.3.1. Teste das Contorções Abdominais induzidas por Ácido	

Acético.....	68
6.3.3.2. Teste da Formalina.....	69
VII – DISCUSSÃO.....	71
VIII – CONCLUSÕES.....	84
IX – PERSPECTIVAS.....	86
REFERÊNCIAS.....	88
ANEXO.....	114

INTRODUÇÃO

I - INTRODUÇÃO

Os produtos naturais incluindo as plantas medicinais têm, ao longo da história, se constituído como fonte principal para a obtenção de novas drogas com potencial efeito terapêutico. Estima-se que aproximadamente a metade dos fármacos em uso são derivados de produtos naturais. De acordo com Organização Mundial de Saúde, a pobreza e a falta de acesso à medicina moderna conduzem 65% a 80% da população do mundo, nos países subdesenvolvidos, a depender essencialmente das plantas para cuidado primário da saúde (PAKER et al., 2007).

No Brasil, a utilização das plantas como medicamento foi influenciada pelas culturas indígena, africana e européia, deixando um acervo cultural que constitui a base da medicina popular, atualmente resgatada pela medicina natural que procura aproveitar suas práticas, porém, fornecendo-lhe um caráter científico (MARTINS et al., 1998).

As pesquisas com plantas medicinais geralmente originam medicamentos em menor tempo, com custos mais acessíveis à população que, em geral, tem de se submeter aos cuidados de uma rede pública de assistência primária de saúde deficiente, e encontra-se sem condições financeiras para arcar com a aquisição dos medicamentos produzidos pela indústria farmacêutica tradicional (MARTINS et al., 1998; FRANCO; FONTANA, 2002).

Nestas últimas duas décadas diversas pesquisas têm sido relatadas envolvendo metodologias voltadas para detecção de atividades farmacológicas com preparações obtidas a partir da flora medicinal, objetivando o desenvolvimento de novos fármacos que possam apresentar vantagens sobre os atuais, principalmente, quanto aos aspectos: efetividade, potência e efeitos colaterais (ALMEIDA et al., 1999).

As hipóteses etiopatológicas das doenças mentais originaram-se a partir de estudos em animais sobre os efeitos de drogas no sistema nervoso central (SNC). Os experimentos em animais, embora sofram as restrições inerentes ao fato de não se poder reproduzir fidedignamente neles as características dos transtornos humanos, são responsáveis, em grande parte, pelo que se sabe atualmente sobre as ações dos psicofármacos em diversas etapas dos processos de transmissão sináptica. Estes modelos experimentais em animais tentam estabelecer um paralelo entre os efeitos comportamentais induzidos pelos psicofármacos com os sinais clínicos e/ou neurofisiológicos em humanos, visando contribuir para a elucidação das bases etiológicas das várias doenças mentais. Os estudos comportamentais têm sido

responsáveis por inúmeros avanços em psicofarmacologia (BARRET; MICZEK, 1995; GORENSTEIN; SCAVONE, 1999).

Os psicofármacos representam uma das mais importantes classes de medicamentos e estão presentes na vida diária de boa parcela da população mundial. A importância atribuída a esses agentes químicos pode ser creditada ao seu inestimável valor terapêutico, o qual resulta em efeitos fisiológicos e psicológicos específicos que possibilitam aos seus usuários terem uma vida relativamente normal (ALMEIDA, 2006).

De acordo com Silva e Leite (2000), os distúrbios de ansiedade se constituem na maior prevalência entre as várias doenças psiquiátricas na população em geral, além de serem patologias freqüentemente identificadas em crianças e adolescentes, podendo ocasionar prejuízos no relacionamento familiar, social e escolar.

As epilepsias também se destacam entre as afecções do Sistema Nervoso Central, sendo um dos distúrbios neurológicos mais comuns, chegando a atingir, segundo a Organização Mundial de Saúde cerca de 50 milhões de pessoas no mundo, tendo uma prevalência em torno de 1% da população mundial (WHO, 2005).

Não obstante, o tratamento da dor tem sido motivo de preocupação e de vários estudos para pesquisadores e para a indústria farmacêutica, pois apesar da variedade de substâncias e do avanço no desenvolvimento das terapias de controle da dor, ainda há uma necessidade urgente de analgésicos potentes, principalmente para os casos de dor crônica, onde a melhor alternativa farmacológica ainda é a morfina, apesar de seus efeitos adversos (CALIXTO et al., 2000; LIRA, 2001).

A família Fabaceae compreende 650 gêneros, dentre os quais se destaca o gênero *Dioclea* (VARELA et al., 2004). Em uma triagem farmacológica comportamental, realizada por Almeida et al. (1999) no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) com o extrato etanólico bruto de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff, foi observada atividade psicodépressora nos camundongos tratados com esta espécie de planta.

Baseado na necessidade do desenvolvimento de novas alternativas farmacológicas que possam ser utilizadas para a ansiedade, epilepsia, e alívio da dor, o presente trabalho investigou uma possível atividade psicofarmacológica da Fração Clorofórmica de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff (FCDv), em camundongos, através de metodologias experimentais comportamentais.

O Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), tem desenvolvido trabalhos de pesquisa na área de psicofarmacologia, no sentido de obter um melhor conhecimento etnofarmacológico e toxicológico de plantas medicinais, tentando, assim, buscar novas alternativas terapêuticas, com menos efeitos colaterais, produzidas em menor tempo, com baixo custo e mais economicamente acessíveis à população.

O presente trabalho objetiva contribuir para a pesquisa científica no que se refere à investigação de possíveis efeitos psicofarmacológicos com a fração clorofórmica da espécie *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff., em modelos animais, na perspectiva de ampliar os conhecimentos científicos da família Fabaceae.

FUNDAMENTAÇÃO
TEÓRICA

II – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE PLANTAS MEDICINAIS

A flora medicinal, há milhares de anos, tem sido utilizada pelas populações de várias partes do mundo em virtude dos benefícios apresentados para manutenção da saúde humana, valor esse reconhecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) que desde 1978 passou a reconhecer oficialmente os medicamentos fitoterápicos como recurso terapêutico de eficácia comprovada (WHO, 1993; ELISABETSKY, 2002).

Inúmeros são os registros que mostram a busca incessante, nas plantas medicinais, para cura ou mesmo alívio de moléstias que têm atingido a humanidade (CARLINI, 1995; DE FEO et al., 1996; AHMAD et al., 1998). É possível encontrar informações de que a maioria dos povos demonstrou um certo conhecimento das plantas existentes nas suas comunidades e seus eventuais empregos terapêuticos. Documentos do ano de 2000 a.C., por exemplo, trazem registros de inúmeros princípios vegetais empregados como medicamentos (ALMEIDA, 2006).

Mesmo havendo um enorme avanço na química medicinal, o desenvolvimento de uma nova droga tornou-se mais difícil, devido a inúmeras razões, incluindo o fato que para a maioria das doenças, drogas com resultados clínicos satisfatórios estão disponíveis, e desenvolver uma droga que seja ativa no mesmo alvo e que não seja mais cara financeiramente, torna-se cada vez mais difícil (VERPOORTE; KIM; CHOI, 2006).

No ano de 2003 apenas 21 novas drogas foram trazidas ao mercado. No período compreendido entre 1981 a 2002, é interessante ressaltar que das 877 novas drogas que foram desenvolvidas, 6% eram produtos naturais, 27% eram derivados de produtos naturais, e 16% eram sintéticas desenvolvidas no modelo de um produto natural (NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2003), demonstrando a importância da natureza como fonte para conduzir a descoberta de novos fármacos.

Os custos para o desenvolvimento de uma nova droga estão entre 800 milhões – 1 bilhão de euros, com 10.000 a 100.000 compostos testados para encontrar uma nova droga. O tempo de desenvolvimento médio da idéia do fármaco até chegar a introduzi-lo no mercado é agora de 15 anos (DIMASI; HANSEN; GRABOWSKI, 2003; DICKSON; GAGNON, 2004; BUTCHER, 2005).

Estima-se que 80% da população mundial utiliza à medicina tradicional como principal recurso no atendimento básico de saúde. Incluem-se aí, cerca de 40.000 a 70.000 plantas medicinais, usadas pelas populações *in natura* (por opção ou por serem a única alternativa disponível) e os sistemas de medicina que empregam plantas processadas em formulações medicamentosas, como a medicina chinesa e ayurvédica (tradicional indiana) (ELISABETSKY, 2002).

Na maioria dos casos, muito pouco é sabido sobre essas plantas (VERPOORTE; KIM; CHOI, 2006), sendo as plantas medicinais uns dos poucos recursos terapêuticos disponíveis para a maioria dessas populações, que as utilizam para tratar diferentes patologias (LAPA; LIMA, 1997; RASKIN et al., 2002).

No Brasil, há cerca de 100.000 espécies vegetais catalogadas, mas somente 8% foram estudadas quanto a sua química, e estima-se que apenas 1.100 espécies tenham sido avaliadas quanto às suas propriedades terapêuticas (VARANDA, 2006).

O Brasil gasta cerca de dois a três bilhões de dólares por ano na importação de matérias-primas utilizadas no preparo de medicamentos. O panorama, nessa área, mostra que 84% dos fármacos consumidos no Brasil são importados e que 78 a 80% da produção é feita por empresas multinacionais (BERMUDEZ, 1995; MIGUEL; MIGUEL, 1999; SIMÕES et al., 2002), índice que justifica a busca de alternativas para superar a dependência externa por parte da indústria químico-farmacêutica brasileira.

Em função de sua fácil aceitabilidade, disponibilidade e baixo custo vêm crescendo o entusiasmo em relação ao estudo de plantas medicinais e seus extratos para assistência à saúde. Grande parte da população mundial utiliza a medicina popular para seus cuidados primários em relação à saúde, e se presume que a maior parte desta terapia tradicional envolve o uso de extratos de plantas ou seus princípios ativos (FARNSWORTH et al., 1985; KAUR et al., 2005).

Estudos têm mostrado o significativo papel dos produtos naturais na pesquisa de novas drogas, tanto na descoberta quanto no desenvolvimento. Por exemplo, cerca de 60-75% das novas drogas utilizadas no tratamento de câncer e doenças infecciosas são de origem natural (NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2003).

Na década de 1980, somente na Europa e nos Estados Unidos, o mercado de preparações fitoterápicas aproximava-se de 6 bilhões de dólares/ano (CARLINI, 1988), já no ano de 1999 os valores mundiais chegaram próximos de 12 bilhões dólares/ano (CALIXTO, 2000), e em 2005 atingiram os 25,5 bilhões de dólares, ficando claro que os produtos naturais continuam a desempenhar importante papel econômico e terapêutico na medicina moderna.

Esse mercado tão rico e próspero tem impulsionado várias pesquisas. Atualmente um grande número de estudos científicos tem se concentrado nas chamadas terapias tradicionais como importante fonte para pesquisas (WHO, 1993).

No Brasil, além dos fatores econômicos, o lado social também é de grande importância onde se estima que, aproximadamente, 50 milhões de brasileiros não têm acesso ao medicamento, e faz, muitas vezes, do tratamento com plantas sua única opção terapêutica (BARBOSA, 2006). Existe uma flora bastante diversificada em toda a extensão do território brasileiro, devido ao clima e a situação geográfica favorável, com vegetações de diferentes características e cujos princípios ativos ainda são desconhecidos (NOGUEIRA et al., 1998; VARANDA, 2006).

Uma investigação nessa área influenciaria diretamente a sociedade em vários níveis, possibilitando a descoberta de novas drogas, a identificação de fontes de substâncias químicas locais capazes de substituir as importadas, assim como o desenvolvimento da indústria de fitoterápicos nacionais. Para alcançar quaisquer dessas metas, entretanto, é indispensável à fundamentação científica. É o que possibilita a transformação segura e eficaz de uma planta em um medicamento de qualidade, diferente do uso baseado na prática popular (ELISABETSKY, 2002).

O desenvolvimento de novos medicamentos ou fármacos encontra-se profundamente alicerçado na história da descoberta da atividade farmacológica exibida por fontes de origens naturais (FARNSWORTH; MORRIS, 1976). Uma enorme variedade de medicamentos teve sua origem na extração direta de fontes naturais, usados praticamente sem modificações estruturais, como encontrados na natureza (DEWICK, 1998).

Substâncias com comprovada atividade farmacológica, por exemplo, curare, quinina, digoxina, entre tantos exemplos de compostos isolados de plantas medicinais existentes no Brasil e no mundo, são utilizadas por culturas indígenas desde a antiguidade. Até os dias atuais, é marcante o isolamento de substâncias a partir de fontes naturais, com atividades biológicas e potenciais superiores, como exemplificados pela vimblastina e vincristina, agentes antineoplásicos isolados do *Catharanthus roseus* G., e a huperzina utilizada no tratamento de doenças degenerativas (CALIXTO, 2000; KHIARI; HASSINI; GRAVEL, 2001; SIMÕES et al., 2002).

Algumas substâncias químicas estão sendo testadas quanto à atividade anti-HIV, como a hipericina e os derivados acilados da castanospermina. Os derivados da artemisina, uma lactona sesquiterpênica com grupo endoperóxido, têm sido utilizados no combate da malária (HAMBURGER; HOSTETTMANN, 1991). Outras substâncias com atividade antimicrobiana

presente nos vegetais são compostos aromáticos, principalmente fenóis e antibióticos macrocíclicos produzidos através de uma das vias biossintéticas do acetato (DI STASI, 1996; COWAN, 1999).

Segundo Almeida (2006), as substâncias químicas que exercem seus efeitos no Sistema Nervoso Central (SNC), são hoje denominadas drogas psicoativas ou psicotrópicas, empregadas para tratar ou aliviar doenças psíquicas desde meados de 1950.

Apesar de apresentarem uma grande procura, é importante salientar que plantas indicadas para o tratamento de doenças com manifestações neurológicas e distúrbios psiquiátricos, muitas vezes não apresentam nenhum respaldo científico e às vezes nem sequer têm ação no SNC (ALMEIDA et al., 1999).

A maioria das plantas com ação no SNC está inserida na categoria de drogas depressoras com amplo emprego terapêutico, pois de modo geral atuam por mecanismos que resultam na diminuição da atividade cerebral (ALMEIDA, 2003).

Dados da literatura mostram vários exemplos históricos do emprego de plantas medicinais na obtenção e estudo de novas substâncias com ação no SNC, tais como a morfina e a codeína, obtidas a partir da *Papaver somniferum* que promovem analgesia e alterações no humor por atuar, principalmente, nos receptores opióides μ (HUANG; KUTCHAN, 2000). A cafeína, extraída da *Paullinia cupana*, que pertence quimicamente à classe das xantinas semelhantes à teofilina e teobromina, que promove efeitos estimulantes do SNC (HENMAN, 1986), a mescalina extraída de *Iophophora williamsii* e a hiosciamina extraída da *Datura stramonium* que promovem efeitos alucinógenos (ALMEIDA, 2006).

2.2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE FÁRMACOS PSICOTRÓPICOS

Psicotrópicos são aquelas drogas que atuam no Sistema Nervoso Central (SNC) e que de alguma forma modificam o funcionamento cerebral, sendo a psicofarmacologia a ciência que se dedica ao estudo das drogas psicotrópicas, nos seus mais variados aspectos (ALMEIDA, 2006).

Há milênios são conhecidas substâncias químicas que exercem seus efeitos no SNC e que de alguma forma influenciam a vivência e o psiquismo, ou seja, promovem modificações comportamentais, no humor ou nos aspectos emocionais. Fazendo-se uma análise do uso dessas drogas psicoativas ao longo da história, podem ser distinguidas duas finalidades correlatas, a primeira delas diz respeito à busca da modificação do comportamento e a outra

visa produzir estados alterados de sensação com fins religiosos, cerimoniais e recreativos (ALMEIDA, 2006).

As drogas que atuam no SNC estão entre as primeiras que foram descobertas pelos seres humanos primitivos e ainda constituem o grupo de compostos farmacológicos mais amplamente estudados (COOPER et al., 1996).

A história da psicofarmacologia moderna inicia-se no final da década de 40, quando foram introduzidos os primeiros fármacos com a finalidade específica de tratar os transtornos psiquiátricos. Data de 1949 o primeiro relato de tratamento da mania com lítio, realizado por Cade, seguido pela descrição dos efeitos antipsicóticos da clorpromazina em 1952, por Delay e Deniker. Os primeiros ansiolíticos foram o meprobamato (1954) e o clordiazepóxido (1957), seguido por uma ampla gama de benzodiazepínicos (GORENSTEIN; SCAVONE, 1999).

Pode-se dizer que a psicofarmacologia emergiu empiricamente. Por exemplo, a origem dos antidepressivos inibidores da monoaminoxidase (IMAO) foi a partir da observação de que a iproniazida, usada no tratamento da tuberculose, era capaz de produzir elevação de humor e euforia. A iproniazida foi introduzida no tratamento de pacientes hospitalizados com depressão após os estudos iniciais de Crane e Kline, de 1956 e 1958, respectivamente. Quase simultaneamente à introdução dos IMAO, a pesquisa de novos compostos anti-histamínicos conduziu ao aparecimento da imipramina (1958), que foi o primeiro de uma série de antidepressivos tricíclicos (SCAVONE; GORENSTEIN, 1991; SNYDER, 1996).

Assim, até o final da década de 50 já haviam sido descobertos cinco grupos de drogas capazes de promover efeitos clínicos em transtornos psiquiátricos: antipsicóticos (clorpromazina, haloperidol), antidepressivos tricíclicos (imipramina), antidepressivos IMAO (iproniazida), ansiolíticos (meprobamato e clordiazepóxido) e antimania (lítio) (GORENSTEIN; SCAVONE, 1999).

Após mais de 40 anos da introdução desses agentes terapêuticos originais, em termos de impacto, pode-se dizer que a introdução dos psicofármacos foi marcante e seu uso disseminou-se amplamente, e em termos de número de drogas disponíveis, houve uma considerável ampliação do arsenal terapêutico, tanto com a expansão do número de compostos dentro do mesmo grupo farmacológico, como com o surgimento de drogas com perfil de ação diferente das originais. Já quanto à eficácia, parece que os compostos mais recentes muito pouco acrescentaram aos originais, embora há de se reconhecer que muitos deles são realmente mais seletivos, levando à maior tolerabilidade e aderência ao tratamento (GORENSTEIN; SCAVONE, 1999).

As funções do SNC são bastante complexas e a classificação dos agentes psicotrópicos está muito longe de ser simples, dada a tamanha dificuldade em definir e medir os índices de função cerebral afetados por estas drogas, logo, ainda não existe nenhuma base única satisfatória e consistente para esta classificação (KATZUNG, 2003; BLOOM, 2006).

Assim, a classificação levando em consideração a estrutura química que estabelece categorias como os benzodiazepínicos e butiroferonas, não proporciona muita orientação para os efeitos farmacológicos. Por outro lado, a classificação farmacológica ou bioquímica é relativamente simples para drogas cujo mecanismo de ação está razoavelmente bem esclarecido (como por exemplos, os inibidores da monoamina oxidase e inibidores da recaptação de aminas), porém ainda existem casos, como por exemplo, dos alucinógenos, em que o mecanismo de ação é pouco conhecido (KATZUNG, 2003; BLOOM, 2006).

Outra possibilidade é adotar uma classificação empírica, baseada no efeito farmacológico global (exemplo: estimulante psicomotor) ou no uso clínico (antidepressivos, agentes antipsicóticos, fármacos antiepilépticos), mas isto apresenta a desvantagem pelo fato de que as indicações das drogas psicotrópicas podem frequentemente mudar de acordo com a conduta clínica (RANG et al., 2004).

De forma a contemplar o maior número de drogas que exercem efeito no SNC, é, então, possível distinguir quatro divisões: psicoanalépticos (estimulantes da atividade do SNC), psicolépticos (depressores da atividade do SNC), psicodislépticos (alucinógenos, psicoticomiméticos ou perturbadores da atividade do SNC) e parapsicotrópicos (medicamentos que embora tenham emprego freqüente na clínica psiquiátrica e/ou neurológica não apresentam um perfil adequado a nenhuma das classes anteriores) (ALMEIDA, 2006).

As principais e mais estudadas classes dos psicotrópicos são: os neurolépticos, os antidepressivos, anticonvulsivantes, ansiolíticos, hipnóticos, relaxantes musculares, e analgésicos (CALIXTO et al., 2000; LIRA, 2001; POLATIN; DERSH, 2004).

Os neurolépticos são também chamados de tranqüilizantes maiores ou ainda de agentes antipsicóticos. Caracterizam-se como antagonistas dos receptores da dopamina, embora muitas drogas atuem sobre outros alvos, particularmente os receptores da 5-HT, o que pode contribuir para sua eficácia clínica. As principais indicações para essas drogas são as psicoses e sintomas associados com transtorno afetivo (bipolar) e transtornos severos de personalidade. Incluem os neurolépticos típicos ou clássicos (clopromazina e haloperidol) e àqueles que têm menor tendência de causar efeitos colaterais motores indesejáveis, chamados

de atípicos ou de segunda geração (clozapina, risperidona e sulpirida) (LIM et al., 2001; BALDESSARINI; TARAZI, 2006).

Os antidepressivos são usados no tratamento da depressão e na elevação do humor – que é um dos vários sintomas desse distúrbio. Os medicamentos de uso clínico podem ser divididos em: tricíclicos (imipramina e amitriptilina), tetracíclicos (metralindol, mianserina), agentes heterocíclicos (amoxapina e bupropiona), inibidores seletivos da recaptção de neurotransmissores (por exemplos, a fluoxetina, paroxetina e sertralina que inibem seletivamente a recaptura de serotonina) e inibidores da monoamina oxidase (maclobemida, fenelzina e tranilcipromina). Todos eles exercem seus efeitos terapêuticos aumentando seletivamente as aminas biogênicas neurotransmissoras em múltiplas vias no SNC (SAWYNOK; ESSER; REID, 2001; BLIER; ABBOT, 2001; ALMEIDA, 2006).

Na classe dos anticonvulsivantes (ou antiepilépticos), o fenobarbital foi o primeiro agente orgânico sintetizado que se reconheceu como dotado de atividade anticonvulsivante. Os medicamentos antiepilépticos podem ser divididos em duas categorias, os clássicos (como a fenitoína, fenobarbital, carbamazepina, clonazepam e nitrazepam) e a nova geração (onde estão inseridas a progabida, gabapentina e lamotigina, entre outros). Os dois principais mecanismos de ação das drogas anticonvulsivantes são a potencialização da ação do ácido gama-aminobutírico (GABA) e a inibição dos canais para sódio dependentes de voltagem (ATTAL, 2000; CLUFF, 2002; ALMEIDA, 2006).

Os ansiolíticos e hipnóticos são drogas utilizadas no tratamento dos sintomas da ansiedade e no tratamento da insônia, respectivamente. Apesar dos objetivos clínicos serem diferentes, as mesmas drogas são frequentemente, usadas para ambas as finalidades. Os principais grupos de drogas utilizadas com esta finalidade são os benzodiazepínicos (diazepam e clordiazepóxido), barbitúricos (zolpidem, fenobarbital e pentobarbital), antagonistas dos receptores beta-adrenérgicos (propranolol) e outras drogas (hidrato de cloral e meprobamato) (SCHATZBERG, 2003; RANG et al., 2004).

Os benzodiazepínicos exercem suas ações farmacológicas através da interação com receptores específicos no SNC, localizados em uma subunidade dos receptores do GABA_A, agindo como neuromoduladores alostéricos positivos. Esta interação ocorre através de um acoplamento estrutural, formando um complexo macromolecular que potencializa os efeitos do neurotransmissor inibitório GABA, aumentando a transmissão gabaérgica pré e pós-sináptica (OGA, 1996; PAGE et al., 1999).

Os barbitúricos também se ligam a receptores associados ao ionóforo de GABA-cloreto; todavia, esses fármacos parecem prolongar os efeitos do GABA, em lugar de intensificá-los (DAILEY, 2005).

Os relaxantes musculares incluem as drogas que não possuem efeitos periféricos no tônus muscular, mas sim efeitos no SNC, que causam relaxamento muscular, incluindo-se nesse grupo o baclofeno, mefenesina e alguns benzodiazepínicos (SCHOFFERMAN, 2003).

Os analgésicos de ação central ou simplesmente opióides têm como característica principal aumentar o limiar neuronal ao estímulo nocivo ou até mesmo erradicar a sensação dolorosa (ALMEIDA, 2006). O termo “opióide” é habitualmente empregado para substâncias de natureza sintética ou peptídica com ação semelhante à morfina, enquanto que “opiáceo” representa uma terminologia mais antiga sendo aplicado a substâncias naturais ou semi-sintéticas isoladas do ópio como a morfina e codeína. Entretanto, alguns autores relacionam o termo opióide de forma ampla a todos os compostos que estão relacionados com o ópio, o suco extraído da *Papaver somniferum* L. (papoula) (GUTSTEIN; AKIL, 2003).

2.3. CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA FABACEAE

A família Fabaceae (Leguminosae) é a terceira maior família de plantas produtoras de flores, ficando somente atrás da Compositae e da Orchidaceae. Possui três subfamílias constando de 650 gêneros e mais de 18,000 espécies (VARELA et al., 2004).

Vários estudos de plantas usadas na medicina tradicional pertencentes aos diferentes gêneros que compõem a família Fabaceae têm sido realizados, principalmente nas áreas de química e farmacologia, com o objetivo de esclarecer composições químicas e suas propriedades farmacológicas.

Isoflavonóides bioativos extraídos de raízes de *Dalbergia horrida* foram isolados (o dalhorridin (I) e o dalhorridinin (II)), e ficou caracterizado através de *screening* biológico do extrato enriquecido, propriedades analgésicas, antiinflamatórias, depressoras do SNC, e propriedade anti-bacteriana (NARAYANAN et al., 2007).

A semente de *Pachyrrhizus erosus* (L) é conhecida por conter rotinóides, flavonóides e derivados de fenilfuranocumarinas como componentes químicos. Na medicina popular é usada no tratamento de insônia, além de possuir atividades antifúngicas, anti-secretória, inseticida, antibacteriana e espasmolítica. Abid, Hrishikeshavan e Asad (2006), realizaram um *screening* no SNC utilizando o extrato etanólico obtido de sementes desta planta, e o

resultado do estudo demonstrou diminuição da atividade locomotora, produção de relaxamento muscular, atividade ansiolítica e antiagressividade.

Do extrato metanólico de *Psoralea corylifolia* foram purificados dois compostos promissores para o desenvolvimento de drogas neuroprotetoras (LEE; KIM; RYU, 2005). E, a partir de extratos obtidos de sementes deste vegetal, ficou demonstrado vários graus de atividade contra os fungos *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* e *Microsporum gypseum*, causadores de dermatites, provavelmente tendo como composto ativo, um flavonóide (RAJENDRA PRASAD et al., 2004).

Os efeitos farmacológicos do extrato aquoso da *Neorautanenia mitis*, usada tradicionalmente para o tratamento de dismenórrea, foram estudados em roedores, e os resultados demonstraram que o extrato possui significativa atividade antinociceptiva dose-dependente em camundongos, e ligeira atividade anti-inflamatória em ratos, também produziu uma inibição dependente de concentração da contração rítmica normal de úteros de ratas isolados, bem como inibiu contrações induzidas por oxitocina ou acetilcolina em úteros de ratas (VONGTAU et al., 2000).

O extrato metanólico de raízes de *Neorautanenia mitis* também possui perfil de droga com atividade antinociceptiva, tanto central como periférica, em ratos e camundongos, de maneira dose-dependente. A ação periférica pode está relacionada em parte as lipoxigenases e/ou ciclo-oxigenases, enquanto a antinocicepção central é possivelmente mediada via receptores opióides no SNC (VONGTAU et al., 2004).

A *Clitoria ternatea* é uma leguminosa forrageira tropical de raízes profundas, distribuída em todas as zonas tropicais do globo. A sua folhagem pode ser incorporada como substituto de matérias primas em rações comerciais para frangos, bem como no sistema de produção ovina devido ao seu potencial nutricional (MONFORTE; CARIAS; CIOCCIA, 2002; BARROS; ROSSETTI; CARVALHO, 2004). Na investigação com o objetivo de determinar o espectro de atividades do extrato metanólico desta planta sobre o SNC, demonstrou-se que o mesmo possui atividades nootrópica (aprendizado e memória), ansiolítica, antidepressiva, anticonvulsivante e antiestresse em camundongos e ratos (JAIN et al., 2003).

O extrato aquoso fresco ou folhas secas de *Cassia siamia* Lamk. têm sido utilizadas no cuidado primário a saúde, para o tratamento da insônia, também é útil contra febre, diabetes, hipertensão, asma, constipação e diurese. O extrato alcoólico das folhas possui atividade depressora do SNC, e o perfil farmacológico do barakol, o maior constituinte da *Cassia*

siamia Lamk. foi estudado por meio de modelos comportamentais em roedores e através de testes neuroquímicos, e os achados indicaram que o barakol possui efeito sedativo, e atua no sistema dopaminérgico, inibindo a liberação de dopamina (SUKMA et al., 2002).

Desmodium gangeticum é conhecido popularmente como Salparni, sendo um vegetal muito usado para tratamento de distúrbios neurológicos. O pré-tratamento com esta planta por sete dias sucessivos, significativamente melhorou o aprendizado e memória e reverteu à amnésia induzida pela escopolamina e pelo envelhecimento natural em camundongos, também diminuiu de um modo geral a atividade da acetilcolinesterase, demonstrando ser um candidato promissor para melhoria da memória e com potencial para o tratamento da demência e Alzheimer (JOSHI; PARLE, 2006).

Doze alcalóides que foram isolados de *Desmodium gangeticum* DC, foram capazes de promover respostas estimulantes e depressoras do SNC, estimulantes de músculo liso, e anticolinesterase. A presença de liberadores de catecolaminas nas raízes foi responsável por um possível efeito nicotínico em intestinos de cachorros (GHOSAL; BHATTACHARYYA, 1972).

O extrato aquoso de *Desmodium gangeticum* DC. mostrou intensa atividade anti-contraturas abdominais induzidas pelo teste do ácido acético, e exibiu moderada atividade depressora do SNC (JABBAR; KHAN; CHOUDHURI, 2001).

Além destas atividades, testes feitos em hamsters usando extrato etanólico bruto e três frações (hexânica, n-butanólica, e aquosa) de *Desmodium gangeticum* revelaram que a planta tem potencial profilático e eficácia terapêutica contra infecções de *Leishmania* (SINGH et al., 2005). E o pré-tratamento com extrato aquoso obtido de raízes de *Desmodium gangeticum* em ratos com infarto de miocárdio induzido pelo isoproterenol preveniu o aumento das enzimas creatinina fosfoquinase (CPK), lactado desidrogenase (LDH), fosfatase alcalina (ALP) e das transaminases oxaloacéticas (SGOT) (KURIAN; PHILIP; VARGHESE, 2005).

Um trabalho investigando alguns efeitos no SNC do extrato etanólico bruto da *Cassia italica* em camundongos revelou que esta planta medicinal possui propriedades depressoras do SNC, manifestadas por antinocicepção e sedação (ALI; BASHIR; TANIRA, 1997). O extrato etanólico de raízes, folhas e vagens da *Cassia italica*, em ratos reduziu edema de pata induzido pela carragenina e febre. Houve também efeito no teste do ácido acético, e uma inibição dose-dependente da liberação de prostaglandinas usando leucócitos peritoneais de ratos (JAIN et al., 1997).

Os efeitos do extrato hidroalcoólico de cascas de hastes de *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu*, plantas que são popularmente utilizadas no Brasil por seus efeitos no

SNC, foram testados, e demonstraram ser capazes de promover atividade depressora do sistema nervoso central e que possivelmente possuem propriedades anticovulsivantes agindo sobre a glicina (VASCONCELOS et al., 2007).

As cascas das hastes de *Erythrina klained* Pierre podem direta ou indiretamente excitar o SNC, e contêm princípios antisalmonella que devem pertencer à classe dos alcalóides (GATSING et al., 2007).

Um estudo descrevendo a atividade analgésica do extrato e algumas frações obtidas de folhas de *Erythrina crista-galli* em diferentes modelos de analgesia *in vivo*, usando camundongos como animais experimentais, mostrou uma inibição dose dependente de contorções abdominais e inibição das duas fases do teste da formalina (FISCHER et al., 2007).

Estudo feito por Martins et al. (2004), demonstram a importância de sementes de ervilhas cruas (*Pisum sativum* L.) na dieta alimentar, uma vez que foi capaz de reduzir o colesterol total do plasma de porcos, através de uma diminuição significativa no colesterol LDL.

Amorpha canescens Pursh é uma erva nativa americana medicinal utilizada contra vermes intestinais, para o tratamento de neuralgia, reumatismo e eczema. O extrato etanólico de folhas desta planta demonstrou possuir atividades antibacteriana e antioxidante (REN; HALAWEISH, 2007).

Em um estudo sobre a atividade antioxidante de extratos das espécies de *Eysenhardtia* (*E. platycarpa*, *E. punctat*, e *E. subcoriaceae*), usadas na medicina tradicional mexicana para o tratamento de complicações diabéticas, ficou demonstrado, através de análises em pâncreas de ratos, atividade antihiperlicemiante e antioxidante de um composto isolado (NARVAEZ-MASTACHE ; SOTO; DELGADO, 2007).

As frações de extratos de raízes de *Sophora flavescens* conduziram ao isolamento de quinze princípios ativos, responsáveis pela citotoxicidade contra cinco tipos de linhagens de células de culturas de tumores humanos (de pulmão, ovário, pele, SNC, e do colón) avaliados por um método *in vitro*. Usualmente esses compostos são flavonóides que ocorrem exclusivamente nestas espécies e a proliferação de células tumorais foram significativamente inibidas durante contínuas exposições a esses compostos (RYU et al., 1997).

2.3.1. Gênero *Dioclea*

O potencial químico e farmacológico do gênero *Dioclea* mostra-se bastante surpreendente. A espécie *Dioclea grandiflora* Mart ex Benth. é conhecida vulgarmente como mucunã, mucunã de caroço, olho de boi, sendo encontrada nas regiões da Caatinga e do Serrado do Nordeste do Brasil. Suas sementes são transformadas em farinha comestível nos períodos de seca e penúria e as cascas de suas raízes são usadas na medicina popular na litíase renal e prostática (BATISTA, 1993).

Nos estudos farmacológicos constituídos da avaliação sobre o SNC dos componentes obtidos das cascas de suas raízes foi verificada atividade depressora do SNC (BATISTA; ALMEIDA; BHATTACHARYYA, 1995). Mattei, Leite e Tufik, 1995, utilizaram extrato aquoso das sementes, e também verificaram este efeito depressor.

Em uma análise sobre os efeitos do extrato etanólico bruto de *Dioclea grandiflora* Mart ex Benth. em modelos animais utilizados para o estudo farmacológico de drogas antiparkinsoniana realizada por MORAIS, (2005) foi observado uma diminuição da atividade espontânea induzida pelo haloperidol, inibição de tremores produzidos por tremorina (agonista colinérgico), e ainda, verificou-se propriedades antioxidantes do extrato.

Uma fração aquosa e a diocleina (um flavonóide), obtidas do extrato etanólico de *Dioclea grandiflora* Mart ex Benth., exibiram significativos efeitos analgésicos em modelos animais experimentais em ratos e camundongos (BATISTA; ALMEIDA; BHATTACHARYYA, 1995).

A diocleina induziu um sustentado e dose-dependente aumento do fluxo coronariano sem promover alteração no ionotropismo e cronotropismo do coração, sugerindo que este flavonóide pode ser um composto interessante para o desenvolvimento de drogas para o tratamento de doenças coronarianas (ALMEIDA et al., 2002). Segundo Lemos et al. (1999) e Trigueiro et al. (2000) a diocleina é capaz de promover efeito vasorelaxante dependente de concentração em anéis de aorta de ratos.

Com um outro flavonóide isolado do extrato bruto obtido de cascas de raízes de *Dioclea grandiflora*, a dioflorina, foi demonstrada atividade analgésica (BHATTACHARYYA et al., 1998). Significativo efeito antinociceptivo também ficou demonstrado a partir do tratamento agudo em ratos e camundongos com o extrato hidroalcoólico de semente desta planta (ALMEIDA et al., 2003).

Atividades antioxidantes de estruturas químicas isoladas, obtidas a partir de folhas de *Dioclea lasiophylla* foram mensuradas usando o método de autooxidação do beta-caroteno em suspensão de ácido linoléico (BARREIROS et al., 2000).

Avaliando-se também a atividade antioxidante do floranol, um novo flavonóide isolado de raízes de *Dioclea grandiflora*, verificou-se que o mesmo pode ser eficiente em prevenir a oxidação da LDL (Lipoproteína de baixa densidade) (BOTELHO et al., 2007). Este mesmo flavonóide produziu um efeito vasodilatador em anéis de aorta de ratos de maneira concentração dependente (LEMOS et al., 2006).

Das sementes de *Dioclea glabra* foi purificado um novo inibidor de serina proteinases, pertencentes à família de inibidores Bowman-Birk (BUENO et al., 1999).

Lecitinas obtidas de sementes de *Dioclea guianensis* var. *Lasiophylla*, *Dioclea rostrata*, *D. grandiflora* e *D. violacea* promoveram estimulação de linfócitos T humanos em voluntários sadios, e estas duas últimas espécies, em camundongos também (BARRAL-NETTO et al., 1992; BARBOSA et al., 2001).

No estudo feito por Teixeira et al., (2006), as lecitinas extraídas de *Dioclea grandiflora* e *D. violacea* foram capazes de inibir a aderência de microorganismos de espécies de streptococos na superfície dentária, podendo ser úteis na terapêutica contra cáries, uma vez que a aderência é uma vantagem para a sobrevivência bacteriana e também uma “etapa chave” no desenvolvimento desta patogênese.

Dioclea virgata (Rich.) Amshoff é conhecida vulgarmente como cipó-pixuma ou feijão-de-boi, suas folhas são utilizadas na medicina popular na forma de decocto para o tratamento de febre e malária (AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007). Apesar de seus usos populares serem registrados, a espécie é pouco investigada cientificamente, sendo verificado apenas um estudo imunológico realizado por Barral-Netto et al. (1992) com as sementes da *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff, além do estudo de avaliação comportamental preliminar feito por Almeida et al., (1999), havendo então, a necessidade de realização de outras investigações farmacológicas com esta planta.

OBJETIVOS

III - OBJETIVOS

- **Geral:**

⇒ Avaliar possíveis efeitos psicofarmacológicos da Fração Clorofórmica de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff (FCDv) utilizando metodologias investigativas de atividade no SNC em camundongos a fim de contribuir para o avanço do conhecimento científico sobre os efeitos farmacológicos da família Fabaceae.

- **Específicos:**

⇒ Avaliar os efeitos tóxicos da FCDv em camundongos pela via intraperitoneal;

⇒ Identificar e caracterizar o efeito sobre o SNC da FCDv;

⇒ Investigar possível efeito ansiolítico, sedativo, anticonvulsivante e antinociceptivo da FCDv em modelos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

IV – MATERIAL

4.1. MATERIAL BOTÂNICO:

Foram utilizadas as folhas e ramos de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff, coletadas em 26/04/2006 na região de Santa Rita, Paraíba, cuja identificação botânica e descrição morfológica foram realizadas pela Professora Dra. Maria de Fátima Agra, do setor de botânica da Universidade Federal da Paraíba.

4.2. ANIMAIS

No desenvolvimento do presente estudo, foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) da linhagem *Swiss*, albinos, machos e fêmeas (nulíparas e não grávidas), pesando entre 30 a 40 g, com aproximadamente 3 meses de idade, provenientes do Biotério Prof. Dr. Thomas George do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Prof. Delby Fernandes Medeiros - da Universidade Federal da Paraíba (LTF/UFPB).

No Biotério, os animais foram alojados em gaiolas de polietileno, contendo 20 camundongos cada, mantidos sob condições monitoradas de temperatura equivalente a $21 \pm 1^\circ\text{C}$, com livre acesso a uma dieta controlada a base de ração tipo *pellets* (Purina®) e água disponível em garrafas graduadas de polietileno, com bicos de inox, encaixadas na parte superior da grade metálica da gaiola. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 6h00 às 18h00.



Figura 01- Camundongo *Swiss* albino, em detalhe.

4.2.1. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Os testes experimentais foram realizados no laboratório de Psicofarmacologia Professor Elizaldo A. Carlini e na sala 03 (Setor de experimentação comportamental) do Biotério Prof. Dr. Thomas George do LTF da Universidade Federal da Paraíba (LTF/UFPB).

Os animais foram previamente alojados em gaiolas de polietileno, contendo 05 animais cada, com pelo menos 60 minutos de antecedência à execução dos testes, visando minimizar as possíveis alterações comportamentais do animal bem como permitir uma adaptação ao novo ambiente. Os camundongos foram mantidos a temperatura de $21 \pm 2^\circ\text{C}$ e privados de água e ração 60 minutos antes dos testes.

Antes de cada procedimento a bancada foi limpa com etanol a 70%, entretanto, durante os testes com os animais foi utilizado etanol de baixa graduação (10%). Os experimentos foram executados no período compreendido entre as 12h00 e 17h00, sendo os animais utilizados uma única vez e, em seguida, sacrificados por deslocamento cervical por um técnico competente.

Em todos os procedimentos experimentais foram utilizados grupos constituídos por machos e fêmeas e deu-se preferência a procedimentos que não provocassem sofrimento, além disso, estes procedimentos foram analisados pelo CEPA- Comitê de Ética em Pesquisa Animal do LTF/UFPB, sob a certidão nº 0503/07.

4.3. SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS

- Ácido acético glacial (Synth – E.U.A.);
- Água destilada (LTF/ UFPB – Brasil);
- Cloreto de sódio (Merck – E.U.A.);
- Cloridrato de Morfina (Merck – E.U.A.);
- Etanol (LTF/ UFPB – Brasil);
- Fração clorofórmica de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff (FCDv) (LTF/ UFPB – Brasil);
- Formaldeído 37% (Vetec – Brasil);
- Formalina 2,5 % (LTF/ UFPB – Brasil);
- Pentilenotetrazol (PTZ) (Sigma – E.U.A.);

- Pentobarbital sódico (Sigma – E.U.A.);
- Tween 80 (Merck – E.U.A.).

As drogas foram administradas por via intraperitoneal (i.p.), no volume de 0,1 mL/10g de peso de camundongo. A preparação das doses foi feita minutos antes de sua utilização, dissolvidas em água destilada ou solução salina 0,9%.

4.4. PREPARAÇÃO da FRAÇÃO CLOROFÓRMICA de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff.

A planta foi inicialmente coletada e identificada pelo setor de botânica, sendo a seguir submetida à secagem em estufa, pulverizada e enviada a equipe do Prof. Dr. Bhattacharyya do LTF/UFPB, para a preparação da FCDv. A partir do pó, fez-se extração com metanol, obtendo-se assim, o extrato metanólico, o qual foi colocado em um aparelho de rotavapor, para a evaporação do solvente, e obtenção do extrato metanólico bruto. Segui-se com uma realização de uma partição utilizando $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ (1:1). Com o funil de separação obteve-se a fase aquosa e a fase clorofórmica.

A partir do extrato metanólico bruto solubilizado em clorofórmio, foi realizada uma filtração em funil de filtração à vácuo, para obtenção do extrato clorofórmico livre de partículas inorgânicas. O extrato clorofórmico foi então colocado em uma coluna preparada com sílica gel, e foi eluído com diferentes solventes seguindo uma ordem crescente de polaridade: hexano, clorofórmio, acetato de etila e com o metanol. A fração clorofórmica obtida nesta coluna, após a evaporação do solvente no rotavapor, foi à utilizada nos experimentos do estudo.

4.5. APARELHAGEM

4.5.1. Aparelho utilizado para o teste da barra giratória *Rota-Rod*

O aparelho de *Rota-Rod* utilizado na parte experimental foi fabricado pela Ugo Basile (Itália), modelo Accelerating Rota-Rod (Jones e Roberts) 7750, possui as seguintes dimensões: 63 x 50 x 49 cm. É constituído por uma barra giratória, dividida por cinco discos, delimitando-se um total de quatro segmentos, com velocidade regulável em rotações por

minutos (r.p.m.). Este aparelho ainda dispõe de um mecanismo automático capaz de contabilizar o tempo de permanência do animal na barra giratória.

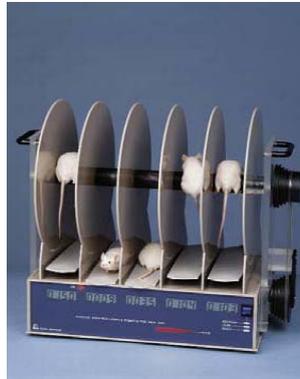


Figura 02 - Aparelho de Rota-Rod.

4.5.2. Aparelho utilizado para o teste do campo aberto

Consiste em uma arena circular metálica, pintada de branco, medindo 55 cm de diâmetro por 40 cm de altura. O piso da arena é dividido em três círculos concêntricos (15, 34 e 55 cm de diâmetro, respectivamente), que, por sua vez, são subdivididos em um total de 16 segmentos, tendo ainda um círculo central, e uma lâmpada de 40 watts colocada no centro do aparelho, suspensa a uma altura de 46 cm do seu piso (ALMEIDA, 2006).



Figura 03 - Aparelho do campo aberto.

4.5.3. Aparelho da placa perfurada (“Hole-board”)

O aparelho da placa perfurada (“Hole-board”) utilizado foi o modelo 6650 da Ugo Basile (Itália), consiste em uma placa quadrada (40 x 40 x 2,2 cm de espessura) com 16 orifícios de 3 cm de diâmetro (eqüidistantes uns dos outros e das bordas), acoplados a

fotocélulas sensíveis ao mergulho da cabeça do animal, as quais são conectadas a um monitor que registra o número de mergulhos e contém também dispositivos para ligar e zerar o aparato. Essa placa é posicionada a 18 cm do balcão através de dois suportes localizados na parte inferior do mesmo.



Figura 04 - Aparelho da placa perfurada.

4.5.4. Aparelho de Eletrochoque (auricular)

O aparelho utilizado na indução das convulsões por impulsos elétricos foi o ECT UNIT 7801, fabricado pela Ugo Basile (Itália), liberando um pulso na frequência de 150 pulsos/segundo e 0,2 segundos de duração com uma corrente nominal de 0,5 mA de intensidade (THAVENDIRANATHAN et al., 2003).

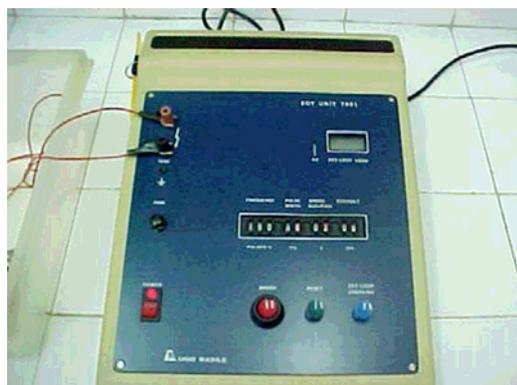


Figura 05 - Aparelho de eletrochoque auricular.

4.5.5. Caixa de observação para o teste da formalina

Este aparato é formado de um encaixe de metal que forma uma caixa triangular em ângulo de 45°, com os lados e altura medindo 25 cm cada, sendo duas paredes formadas por espelho e uma de vidro transparente, que possibilita ao observador um maior campo de visão (Figura 06).

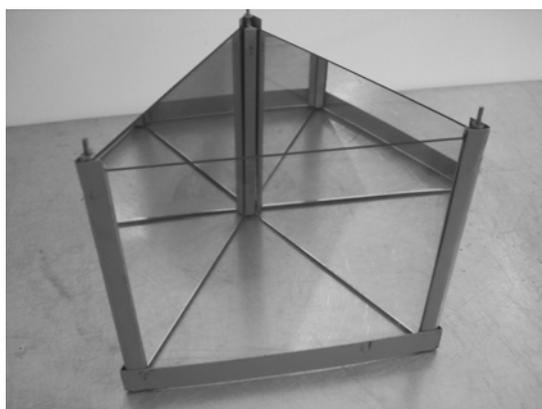


Figura 06 - Caixa de observação usada para o teste da formalina.

4.5.6. Aparelho pHmetro digital

O medidor de pH utilizado foi o modelo PG2000 fabricado pela GEHAKA. Este aparelho permite coletar medidas de pH ou mV com temperatura compensada. Possui teclado resistente a ambientes agressivos com seis teclas que permitem o total controle do PG2000, contém display LCD alfanumérico de duas linhas x 16 caracteres que permite uma fácil leitura. Fornecido com sensor de temperatura, suporte de eletrodos pantográfico e eletrodo padrão para uso geral com soluções aquosas.



Figura 07 - Aparelho pHmetro digital PG2000.

V. MÉTODOS

5.1. TESTES PRELIMINARES

5.1.1. Testes de Solubilidade e Determinação do pH

Foram realizados testes de solubilidade da fração clorofórmica de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff (FCDv) em: água destilada, solução salina 0,9% e tween 80 (obedecendo à proporção de 10 mg para cada 01 mL de água destilada). Por meio do aparelho pHmetro digital PG2000, foi obtido o valor do pH da preparação.

5.1.2. Avaliação dos Efeitos Tóxicos

Segundo Almeida (2006) o teste para avaliar uma toxicidade aguda (dose única) compreende uma etapa que antecede os ensaios farmacológicos, sendo desenvolvido com o objetivo de obter dados preliminares sobre as propriedades tóxicas de uma substância e seus efeitos adversos num organismo submetido a tratamento de curta duração. A escolha das doses deve incluir pelo menos três doses espaçadas capazes de mostrar os efeitos tóxicos da substância.

Respeitando o aspecto de racionalização do uso de animais, o que está em concordância com os princípios éticos que norteiam pesquisas envolvendo animais de laboratório como sujeitos experimentais, bem como a redução da quantidade de droga utilizada, procedemos da seguinte forma:

- Grupos de camundongos de ambos os sexos (N=10, sendo 05 machos e 05 fêmeas nulíparas e não-grávidas), foram tratados, por via intraperitoneal, com doses crescentes da FCDv: 125, 250, 500 e 1000 mg/kg (com um volume de 0,1 mL para cada 10 g de peso corporal), e com água destilada com auxílio de uma gota de tween 80 (grupo controle); desta maneira foi permitido, que estes grupos fossem utilizados tanto para a realização da triagem farmacológica comportamental, como paralelamente para investigação da DL₅₀ da fração em estudo.

5.1.2.1. Triagem Farmacológica Comportamental

A comprovação de atividade no SNC apresentado por extratos obtidos de plantas requer primordialmente a utilização de modelos animais apropriados que possam preencher determinados critérios de validação. Neste protocolo experimental são estabelecidos alguns critérios comparativos para uma série de comportamentos, que na sua maioria são exibidos normalmente pelos animais. De forma que ocorrendo qualquer alteração comportamental em decorrência de tratamentos é possível inferir uma relação com atividade no SNC (ALMEIDA et al., 1999).

Para tanto, conforme explicado anteriormente, os animais foram divididos em grupos de 10 camundongos (de ambos os sexos), sendo submetidos à administração via intraperitoneal da fração em estudo, nas doses de 125, 250, 500 e 1000 mg/kg (grupos experimentais) e do veículo utilizado nas preparações (grupo controle).

Os grupos de animais foram observados durante um período de 04 horas, onde diversos comportamentos ou alterações que indicassem atividade farmacológica no sistema nervoso central, tomando como referência os camundongos do grupo controle foram registrados de acordo com a metodologia descrita por Almeida et al. (1999). As anotações foram feitas aos 30; 60; 120; 180 e 240 minutos, após os respectivos tratamentos, seguindo-se um protocolo experimental padrão de avaliação comportamental (presente no Anexo 1).

5.1.2.2. Determinação da DL₅₀

A determinação da dose letal 50% (DL₅₀) possibilita investigar os possíveis efeitos tóxicos de substâncias e extratos, determinando a dose responsável pela morte de 50% dos animais em experimento (LITCHFIELD; WILCOXON, 1949), permitindo a realização dos testes psicofarmacológicos em doses seguras.

A DL₅₀ de uma substância não é uma constante biológica, sendo considerada um valor estatístico utilizado para descrever a resposta letal dessa substância em determinada população submetida a uma série de condições experimentais (EATON; KLAASSEN, 1996).

Após a observação por um período de 04 horas dos cinco grupos de animais que foram submetidos à triagem farmacológica comportamental, os camundongos receberam água e

comida, e foram observados a cada 24 horas durante um período de até 72 horas, para o registro de possíveis mortes, a fim de possibilitar a determinação da DL₅₀.

5.2. TESTES GERAIS PARA INVESTIGAR A AÇÃO CENTRAL

5.2.1. Teste de Potencialização do Tempo de Sono Induzido pelo Pentobarbital Sódico

Esse teste permite avaliar a atividade depressora induzida por substâncias, já que um aumento adicional do tempo de sono induzido por pentobarbital decorrente do tratamento com a substância-teste é indicativo de atividade depressora no SNC (ADZU et al., 2002a).

Foram utilizados grupos de dez camundongos cada (de ambos os sexos) tratados com a FCDv nas doses de 125, 250 e 500 mg /kg, por via i.p., e um grupo controle tratado com o veículo. Após 30 minutos dos respectivos tratamentos, os animais eram administrados com 40 mg/kg de pentobarbital sódico, diluído em solução salina 0,9%, por via i.p., e colocados em caixas individuais (CHINDO et al., 2003).

Foram registrados os parâmetros: “latência para adormecer” (em segundos), período considerado entre a administração do pentobarbital e o início do efeito hipnótico/sono, sendo esse caracterizado quando o animal era colocado em decúbito dorsal e não mais possuía o reflexo de endireitamento, retornado ao decúbito ventral. E o “tempo de sono” (em minutos), que compreende o período decorrido entre a perda e a recuperação do reflexo de endireitamento. Os registros para ambos os parâmetros eram feito após três tentativas (CARLINI et al., 1986; MATTEI et al., 1998).

5.2.2. Teste da Barra Giratória *Rota Rod*

O teste da barra giratória (*Rota Rod*) foi proposto por Dunham e Miya (1957). Consiste em colocar camundongos sobre uma barra que gira a uma velocidade constante e verificar a capacidade do animal equilibrar-se sobre a mesma. Através desta metodologia é

possível medir o efeito de relaxamento muscular ou incoordenação motora produzido por várias drogas (CARLINI; BURGOS, 1979).

Foi realizada uma pré-seleção dos animais, sem administração de substâncias, cujo critério era a permanência na barra giratória do aparelho de Rota Rod, a uma velocidade constante de 7 rotações por minuto (7 r.p.m.), por pelo menos três minutos (MENDES et al., 2002).

Vinte e quatro horas após a pré-seleção, os camundongos (N=10 por grupo, sendo 05 machos e 05 fêmeas) receberam a fração da planta em teste nas doses de 125, 250, 500 mg/kg; o grupo controle recebeu água destilada com auxílio de uma gota de tween 80 via intraperitoneal.

Foram avaliados em diferentes intervalos de tempo, aos 30, 60, e 120 minutos, onde foi observado o tempo de permanência total dos mesmos no aparelho, com até três reconduções (MORAIS et al., 2004). Animais que falharam mais que uma vez em permanecer por três minutos na barra giratória constituiu um resultado positivo para perda da coordenação motora (DUNHAM; MIYA, 1957).

5.3. AVALIAÇÃO ESPECÍFICA DA ATIVIDADE NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

5.3.1. Estudo da atividade ansiolítica e sedativa

5.3.1.1. Teste do Campo Aberto

Esse teste permite avaliar a atividade exploratória dos animais, uma vez que sua tendência natural é explorar o ambiente novo, apesar do estresse e do conflito provocado pelo mesmo (MONTGOMERY, 1955).

Os animais (N= 10 camundongos, de ambos os sexos) foram submetidos individualmente ao aparelho do Campo Aberto por um período de 5 minutos, 30 minutos após os pré-tratamentos com o veículo (grupo controle), e com a FCDv nas doses de 125, 250, 500 mg /kg (grupos experimentais). Neste teste, observou-se o número de comportamentos:

- Da movimentação espontânea (ambulação), registrada pelo número de cruzamentos, com as quatro patas, entre as divisões do campo;
- De auto-limpeza (*grooming*);
- De levantar (*rearing*);
- Defecação (número de bolos fecais) (MONTGOMERY, 1955).

Esses parâmetros são utilizados como índice da interferência do extrato sobre o comportamento emocional do animal, indicando alterações sobre o sistema nervoso central. Alguns estudos têm demonstrado que alterações nesses parâmetros têm correlação com a ansiedade no homem (MASUR, 1971).

5.3.1.2. O Teste da placa perfurada ou *Hole Board*

O Teste da placa perfurada é um teste geralmente utilizado para triagem de drogas com caráter ansiolítico, baseia-se na observação de que a atividade de mergulhos da cabeça dos animais é inversamente proporcional ao estado de “ansiedade” dos mesmos, há também uma avaliação da atividade motora e exploratória direcionada através do número de cruzamentos entre os quadros delimitados do aparelho e do número de levantar (ALMEIDA, 2006).

Os animais foram divididos em grupos de 10 camundongos de ambos os sexos, e transcorridos 30 minutos após os pré-tratamentos com o veículo (grupo controle), e com a FCDv nas doses de 125, 250, 500 mg /kg (grupos experimentais), cada animal foi colocado no centro do aparelho, individualmente, sendo observado por um período de 5 minutos. Os parâmetros avaliados foram: o número de mergulhos da cabeça nos orifícios até o nível das orelhas dos animais, a latência para o primeiro mergulho, o número de levantar, além do registro do número de cruzamentos entre as diferentes áreas demarcadas do equipamento.

5.3.2. Estudo da atividade anticonvulsivante

5.3.2.1 Teste das Convulsões Induzidas pelo Pentilenotetrazol

O pentilenotetrazol (PTZ) é uma das principais substâncias indutoras de convulsão utilizadas na triagem pré-clínica de novos fármacos anticonvulsivantes (LÖSCHER; SCHMIDT, 2002; RANG et al., 2004), podendo ser utilizado como modelo de crises generalizadas dos tipos ausência, mioclônicas e de crises tônico-clônicas (OLIVEIRA et al., 2001).

O experimento foi realizado com quatro grupos de 10 camundongos (05 machos e 05 fêmeas), onde um grupo foi tratado com o veículo, três receberam a FCDv nas doses de 125, 250 e 500 mg/kg, todas as administrações pela via intraperitoneal. Após 30 minutos dos tratamentos, os animais receberam a injeção de 60 mg/kg de PTZ (solúvel em água destilada), pela via i.p. (SAYYAH; MOAIED; KAMALINEJAD, 2005).

Em seguida, foram imediatamente colocados em caixas de polietileno individuais, durante 15 minutos, para a observação da presença de crises convulsivas, da latência para o animal entrar em convulsão, isto é, o tempo decorrido desde a administração do PTZ até o aparecimento da primeira convulsão; e percentagem de mortalidade registradas por um período de 48 horas (VELISEK et al., 1991).

5.3.2.2. Teste das Convulsões Induzidas Pelo Eletrochoque Auricular

Em conjunto com o PTZ, e em decorrência de sua simplicidade e rapidez de resposta, esse é um dos “testes-padrão” utilizados pelos laboratórios farmacêuticos na investigação de novos compostos com potencial anticonvulsivante (ALMEIDA, 2006).

O teste das convulsões induzidas por eletrochoque ou eletrochoque máximo foi inicialmente descrito por Merritt e Putnam (1938). Esse protocolo baseia-se no fato que drogas antiepiléticas eficazes no tratamento de crises generalizadas tônico-clônicas, tais como valproato, fenitoína e carbamazepina, bloqueiam as convulsões tônicas produzidas pelo eletrochoque auricular agudo (FISHER, 1989; LÖSCHER et al., 1991; KITANO et al., 1996).

Foram constituídos grupos de 10 camundongos (de ambos os sexos): três grupos experimentais, os quais receberam a FCDv nas doses de 125, 250 e 500 mg /kg, via i.p., e um grupo controle (tratado com o veículo, pela via i.p.).

Após 30 minutos dos tratamentos, todos os animais foram submetidos a um choque auricular com corrente nominal de 0,5 mA de intensidade, numa frequência de 150 pulsos/segundo e uma duração de 0,2 segundos (Eletroestimulador ECT UNIT 7801). Os parâmetros observados foram: o número de animais que apresentaram convulsões tônicas, registro de mortes e o tempo de flexão e extensão das patas (duração da convulsão) (TORTORIELLO; ORTEGA, 1993).

5.3.3. Estudo da atividade antinociceptiva

5.3.3.1. Teste das Contorções Abdominais induzidas por Ácido Acético

O teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético, é um método que se baseia no fato de que a injeção intraperitoneal da solução de ácido acético a 0,8% em camundongos provoca irritação nesta região, envolvendo a estimulação de nociceptores que gera reações comportamentais, sendo tal efeito nociceptivo caracterizado por contorções abdominais seguidas de extensões dos membros posteriores (KOSTER; ANDERSON; DEBBER, 1959). De um modo geral, as drogas com propriedades analgésicas reduzem ou mesmo inibem esse comportamento (COLLIER et al., 1968).

Para este experimento cinco grupos de 10 camundongos (sendo, 05 machos e 05 fêmeas) receberam por via i.p. os seguintes pré- tratamentos: veículo, 125, 250 e 500 mg /kg de FCDv, além de um grupo que recebeu morfina 6 mg/Kg, i.p.

Transcorrido 30 min dos tratamentos iniciais, os animais foram tratados com solução de ácido acético 0,8% em água destilada (0,1 mL/10 g) por via i.p. e colocados em caixas de polietileno individuais, sendo então registrada a “latência” para o aparecimento da primeira contorção, e contabilizado o número de contorções abdominais apresentados por cada animal durante um período de 20 minutos de observação (NARDI et al., 2006).

5.3.3.2. Teste da Formalina

O teste da formalina foi realizado como descrito por Vaz et al., (1996) que representa uma modificação do modelo original de Hunskaar, Fasmar e Hole, (1985) e Santos et al., (1995).

Nessa metodologia uma solução de formalina é injetada na região subplantar do camundongo o que leva a estimulação dos nociceptores, sendo o tempo de lambida da pata do animal considerado indicativo de resposta nociceptiva (SOUZA et al., 2000). São observadas duas fase em que é quantificado o tempo de lambida da pata. A primeira fase, normalmente ocorre nos cinco primeiros minutos após a injeção da formalina, levando a uma resposta neurogênica, em seguida há uma interfase de aproximadamente 10 minutos caracterizada por mecanismos inibitórios da dor. A segunda fase (15-30 minutos) é conhecida principalmente por uma resposta inflamatória (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

Foram constituídos quatro grupos de 10 camundongos (de ambos os sexos), os quais receberam por via i.p. os seguintes pré-tratamentos: veículo (grupo controle), 250 mg/kg da FCDv (grupo experimental), morfina na dose de 6 mg/kg e ácido acetil salicílico (AAS) 100 mg/kg. Após 30 minutos, 20µL de solução de formalina 2,5% que consiste em 0,92% de formaldeído em solução salina, foram injetadas na região subplantar da pata posterior direita dos camundongos, em seguida esses animais foram colocados nas caixas de observação, sendo então registrado o tempo total de lambida da pata que recebeu a formalina durante 5 minutos (1ª fase). Após um período de 10 minutos, novamente contabilizava-se o parâmetro citado por mais 15 minutos (2ª fase).

5.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como a média e e.p.m. ou porcentagem e analisados estatisticamente utilizando o teste “t” de Student não pareado para medidas paramétricas, e o teste de Mann Whitney para medidas não paramétricas, e foram considerados significantes quando apresentaram $p < 0,05$.

Todos os dados obtidos foram avaliados estatisticamente através do programa GraphPad Prism, versão 4.0 (GraphPad Software Incorporated, San Diego, USA).

RESULTADOS

VI. RESULTADOS

6.1. TESTES PRELIMINARES

6.1.1. Testes de Solubilidade e Determinação do pH

A FCDv foi dissolvida em água destilada com auxílio de uma gota de tween 80. Esta preparação apresentou pH de aproximadamente 4,8 (23°C).

6.1.2. Avaliação dos Efeitos Tóxicos

6.1.2.1. Triagem Farmacológica Comportamental

A tabela 1 mostra as alterações comportamentais apresentadas pelos camundongos tratados com a Fração Clorofórmica de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff (FCDv) via intraperitoneal, em relação ao grupo controle. Na dose de 125 mg/kg, durante todo o período de observação não foram verificados efeitos comportamentais decorrentes do tratamento com a fração.

Os animais tratados com 250 mg/kg da FCDv apresentaram diminuição da ambulação aos 30 e 60 minutos, e os que receberam 500 mg/kg, além da diminuição deste parâmetro, apresentaram resposta ao toque diminuída, não sendo mais observados efeitos em ambas as doses aos 120, 180 e 240 minutos do tratamento.

No tratamento com 1000 mg/kg, os camundongos apresentaram diminuição da ambulação, resposta ao toque diminuída, sedação, presença de contorções abdominais, e defecação aumentada até os 30 minutos. Aos 60 minutos de observação os animais tiveram resposta ao toque diminuída, sedação e diminuição da ambulação. Aos 120, 180 e 240 minutos da administração da fração não foram observados efeitos comportamentais.

Tabela 1 – Alterações comportamentais em camundongos induzidas pelo tratamento com a FCDv;

DOSE (mg/kg, i.p.)	TEMPO (minutos)	PRINCIPAIS EFEITOS OBSERVADOS
FCDv 125	Até 30	Sem alterações comportamentais
	60	Sem alterações comportamentais
	120	Sem alterações comportamentais
	180	Sem alterações comportamentais
	240	Sem alterações comportamentais
FCDv 250	Até 30	(-) Ambulação
	60	(-) Ambulação
	120	Sem alterações comportamentais
	180	Sem alterações comportamentais
	240	Sem alterações comportamentais
FCDv 500	Até 30	(-) Ambulação, (+) Resposta ao toque diminuída
	60	(-) Ambulação, (+) Resposta ao toque diminuída
	120	Sem alterações comportamentais
	180	Sem alterações comportamentais
	240	Sem alterações comportamentais
FCDv 1000	Até 30	(-) Ambulação, (+) Contorções abdominais, (+) Defecação aumentada, (+) Resposta ao toque diminuída, (+) Sedação
	60	(-) Ambulação, (+) Resposta ao toque diminuída, (+) Sedação
	120	Sem alterações comportamentais
	180	Sem alterações comportamentais
	240	Sem alterações comportamentais

(-) efeito diminuído, (--) efeito bem diminuído, (+) efeito presente, (++) efeito presente intenso

(n=10 animais por grupo)

6.1.2.2. Determinação da Dose Letal 50%

As doses de 125, 250, e 500 mg/kg da FCDv não promoveram mortalidades dos camundongos. No grupo de animais tratado com 1000 mg/kg, foi observado 10% de mortes. A partir da dose de 1000 mg/kg não foi possível solubilizar a fração em estudo.

6.2. TESTES GERAIS PARA INVESTIGAR A AÇÃO CENTRAL

6.2.1. Teste de Potencialização do Tempo de Sono Induzido pelo Pentobarbital Sódico

Conforme ilustrado no Gráfico 1, a FCDv interferiu de forma significativa ($p < 0,05$) na perda do reflexo de indireitamento, e conseqüentemente, no início do sono induzido por pentobarbital, com o tratamento nas doses de 125 ($193,2 \pm 8,2$ seg.) e 250 mg/kg ($190,1 \pm 7,1$ seg.) quando comparados com o grupo controle com uma latência de $230,4 \pm 9,4$ segundos. A dose de 500 mg/kg ($206,5 \pm 19,7$ seg.) não interferiu significativamente na latência.

Gráfico 1 – Efeito da FCDv sobre a latência para início do sono induzido por pentobarbital, em camundongos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. ($n=10$), ** $p < 0,05$ vs grupo controle. Teste t-Student.

O tratamento dos camundongos com a FCDv não foi efetivo em aumentar o tempo de sono dos animais (Gráfico 2). Com 125, 250 e 500 mg/kg observou-se um tempo total de sono em minutos de $60,0 \pm 7,2$; $57,1 \pm 4,7$ e $73,3 \pm 9,4$ minutos, respectivamente, não sendo observado diferenças estatísticas significativas com relação ao controle ($59,6 \pm 6,9$ min.).

Gráfico 2 – Efeito da FCDv sobre o tempo de sono induzido por pentobarbital, em camundongos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10). Teste t-Student.

6.2.2. Teste da Barra Giratória *Rota Rod*

Neste teste, conforme mostra o Gráfico 3, após 30 minutos do tratamento com a FCDv, nenhuma das três doses avaliadas: 125 mg/kg ($175,2 \pm 3,6$ seg.), 250 mg/kg ($179,9 \pm 0,1$ seg.) e 500 mg/kg ($163,8 \pm 13,2$ seg.) causaram uma redução significativa no tempo de permanência dos animais na barra giratória quando comparadas ao grupo controle ($179,8 \pm 0,2$ seg.).

Gráfico 3 – Efeito da FCDv sobre a coordenação motora de camundongos no teste do Rota Rod, após 30 minutos da administração. Os valores são o tempo total de permanência dos animais na barra giratória. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10). Teste Mann Whitney.

Transcorridos 60 minutos após a administração da FCDv, o grupo controle permaneceu na barra giratória por $177,4 \pm 1,7$ segundos. Os grupos que receberam as doses de 125, 250 e 500 mg/kg da fração, $175,3 \pm 3,4$; $178,9 \pm 1,1$; e $176,0 \pm 3,7$ segundos, respectivamente, não provocando, portanto, alterações significativas no tempo de permanência dos camundongos na barra (Gráfico 4) .

Gráfico 4. Efeito da FCDv sobre a coordenação motora de camundongos no teste do Rota Rod, após 60 minutos da administração. Os valores são o tempo total de permanência dos animais na barra giratória. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10). Teste Mann Whitney.

Também não ocorreu redução significativa no tempo de permanência dos animais na barra giratória, aos 120 minutos após a administração de 125, 250 e 500 mg/kg da FCDv, os quais permaneceram na barra por $177,5 \pm 1,9$; $171,8 \pm 7,3$; $162,3 \pm 14,7$ segundos, respectivamente, quando comparadas ao grupo controle ($178,5 \pm 1,0$ seg.), conforme observamos no Gráfico 5.

Gráfico 5. Efeito da FCDv sobre a coordenação motora de camundongos no teste do Rota Rod, após 120 minutos da administração. Os valores são o tempo total de permanência dos animais na barra giratória. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10). Teste Mann Whitney.

6.3. AVALIAÇÃO ESPECÍFICA DA ATIVIDADE NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

6.3.1. Estudo da atividade ansiolítica e sedativa

6.3.1.1. Teste do Campo Aberto

Os animais submetidos ao Campo Aberto, apresentaram uma diminuição da ambulação, registrada pelo número de cruzamentos, com as quatro patas, entre as divisões do aparelho, ao receberem a dose de 250 mg/kg ($94,60 \pm 9,1$) da FCDv quando comparados ao grupo controle ($135,8 \pm 13,4$). As doses de 125 mg/kg ($110,3 \pm 11,25$) e 500 mg/kg ($112,5 \pm 15,9$) não provocaram alteração neste parâmetro (Gráfico 6).

Gráfico 6 – Efeito da FCDv sobre a ambulação, em camundongos submetidos ao aparelho do campo aberto por 5 minutos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), * $p < 0,05$ vs grupo controle. Teste t-Student.

De acordo com o observado no Gráfico 7, os tempos de auto-limpeza dos animais tratados com a FCDv nas doses de 125 mg/kg ($15,3 \pm 5,8$ seg.), 250 mg/kg ($7,8 \pm 2,4$ seg.), e de 500 mg/kg ($15,1 \pm 5,6$ seg.) não foram significativamente alterados quando comparados com os camundongos tratados com o veículo ($3,1 \pm 1,4$ seg.).

Gráfico 7 – Efeito da FCDv sobre o tempo de auto- limpeza, em camundongos submetidos ao aparelho do campo aberto por 5 minutos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10). Teste t-Student.

Conforme ilustrado no Gráfico 8, os animais do grupo tratado com 250 mg/kg ($25,8 \pm 4,2$) da FCDv, diminuiram significativamente o número de vezes do comportamento de levantar em relação ao grupo controle ($43,4 \pm 4,7$), o que não ocorreu com os grupos que receberam a dose de 125 mg/kg ($31,1 \pm 5,8$), e de 500 mg/kg ($34,2 \pm 5,1$).

Gráfico 8 – Efeito da FCDv sobre o comportamento de levantar, em camundongos submetidos ao aparelho do campo aberto por 5 minutos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), * $p < 0,05$ vs grupo controle. Teste t-Student.

A quantidade de bolos fecais dos animais dos grupos tratados com 125 mg/kg ($0,4 \pm 0,1$) e 250 mg/kg ($0,2 \pm 0,1$) da FCDv foi significativamente menor do que os do grupo controle ($1,3 \pm 0,3$). O grupo com a dose de 500 mg/kg não provocou alteração significativa neste parâmetro avaliado ($0,8 \pm 0,3$), como mostra o Gráfico 9.

Gráfico 9 – Efeito da FCDv sobre a defecação (número de bolos fecais), em camundongos submetidos ao aparelho do campo aberto por 5 minutos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ vs grupo controle. Teste Mann Whitney.

6.3.1.2. O Teste da placa perfurada ou Hole Board

O tratamento com a dose de 250 mg/kg ($24,1 \pm 2,9$) da FCDv diminuiu o número de mergulhos da cabeça nos orifícios até o nível das orelhas dos animais em relação ao grupo controle ($33,1 \pm 2,3$) de maneira significativa. Com as doses de 125 ($27,7 \pm 5,3$) e 500 mg/kg ($31,9 \pm 3,5$), não houve alterações no número total de mergulhos (Gráfico 10).

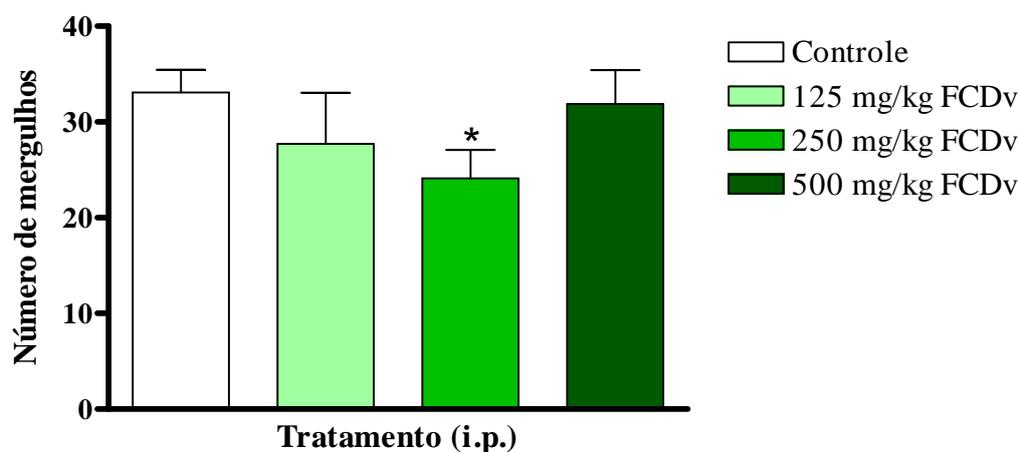


Gráfico 10. Efeito da FCDv no número total de mergulhos no teste da placa perfurada em camundongos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. ($n=10$), * $p < 0,05$ vs grupo controle. Teste t-Student.

O Gráfico 11 mostra que os animais tratados com a FCDv nas doses de 125 ($6,2 \pm 1,2$ seg.), 250 ($6,9 \pm 1,8$ seg.) e 500 mg/kg ($6,0 \pm 1,4$ seg.), não interferiram de maneira significativa na latência para o início dos mergulhos quando comparados com os do grupo controle ($5,2 \pm 1,0$ seg.).

Gráfico 11. Efeito da FCDv na latência para o primeiro mergulho no teste da placa perfurada em camundongos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10). Teste t-Student.

Conforme o observado no gráfico 12, não ocorreu alteração no comportamento de levantar pelos camundongos que receberam a FCDv nas doses de 125 ($0,05 \pm 0,05$), 250 ($0,1 \pm 0,1$) e 500 mg/kg ($0,4 \pm 0,3$) comparando com o grupo controle ($0,5 \pm 0,2$).

Gráfico 12. Efeito da FCDv no número de vezes do comportamento de levantar no teste da placa perfurada em camundongos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10). Teste Mann Whitney.

Não houve diferença significativa no número de cruzamentos entre as áreas demarcadas do equipamento da placa perfurada com os animais nos quais foram administrados o veículo ($18,5 \pm 3,1$) e a FCDv nas doses de 125 ($14,6 \pm 3,8$), 250 ($14,2 \pm 1,7$) e 500 mg/kg ($17,5 \pm 2,4$), como mostra o Gráfico 13.

Gráfico 13. Efeito da FCDv no número de cruzamentos dos camundongos no teste da placa perfurada. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10). Teste t-Student.

6.3.2. Estudo da atividade anticonvulsivante

6.3.2.1. Teste das Convulsões Induzidas pelo Pentilenotetrazol

Com relação à ocorrência de ataques convulsivos durante o teste das quimioconvulsões induzidas por pentilenotetrazol, todos os grupos, apresentaram convulsões dos tipos clônica e tônico/clônica, ocorrendo um aumento do percentual de animais que apresentaram convulsões clônicas nos que receberam a dose 500 mg/kg e uma diminuição das crises tônico/clônica nos animais tratados com 125, 250 e 500 mg/kg da FCDv quando comparados com o grupo controle. Na análise da percentagem de mortes, foi evidenciado que nos grupos tratados com a fração houve uma menor mortalidade, na dose de 250 mg/kg e de 500 mg/kg com 20% e 40% de óbitos, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2 – Percentual de ataques convulsivos e mortalidade observados nos camundongos tratados com veículo e com a FCDv durante o teste das quimioconvulsões induzidas por pentilenotetrazol;

Tratamento (mg/kg, i.p.)	% de animais que apresentaram convulsão		% de mortes (até 48 horas)
	Clônica	Tônico/Clônica	
Controle	80%	70%	70%
FCDv 125 mg/kg	80%	50%	70%
FCDv 250 mg/kg	80%	20%	20%
FCDv 500 mg/kg	100%	40%	40%

(n=10 animais por grupo)

O Gráfico 14 mostra que os animais tratados com a FCDv nas doses de 125 ($254,1 \pm 107,8$ seg.), 250 ($448,0 \pm 108,8$ seg.), e 500 mg/kg ($85,8 \pm 4,2$ seg.), não interferiram de maneira significativa na latência para o início de convulsões induzidas quimicamente pelo PTZ quando comparados com os do grupo controle ($170,3 \pm 81,3$ seg.).

Gráfico 14. Efeito da FCDv na latência para o animal entrar em convulsão durante o teste das convulsões induzidas quimicamente pelo PTZ em camundongos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10). Teste Mann Whitney.

6.3.2.2. Teste das Convulsões Induzidas Pelo Eletrochoque Auricular

A tabela 3 mostra que 100% dos animais apresentaram convulsão tônica ao serem submetidos ao teste de convulsões induzidas por Eletrochoque auricular, tanto o grupo

controle quanto os grupos experimentais (tratados com 125 mg/kg, 250 mg/kg e 500 mg/kg da FCDv). Observando-se a ausência de mortalidade até 48 horas após a realização do experimento em todos os grupos testados.

Tabela 3 – Percentual de ataques convulsivos tônicos e mortalidade observados nos camundongos tratados com veículo e com a FCDv durante o teste de convulsões induzidas por Eletrochoque auricular;

Tratamento (mg/kg, i.p.)	% de animais que apresentaram convulsão tônica	% de mortes (até 48 horas)
Controle	100%	0%
FCDv 125 mg/kg	100%	0%
FCDv 250 mg/kg	100%	0%
FCDv 500 mg/kg	100%	0%

(n=10 animais por grupo)

Os resultados apresentados no Gráfico 15 demonstram que o tratamento com a FCDv nas doses de 250 ($17,9 \pm 0,4$ seg.) e 500 mg/kg ($18,4 \pm 1,0$ seg.) aumentaram significativamente o tempo de duração das convulsões em relação ao grupo controle ($13,5 \pm 0,6$ seg.). A dose de 125 mg/kg ($15,9 \pm 1,5$ seg.) não causou alteração significativa.

Gráfico 15. Efeito da FCDv na duração da convulsão durante o teste de convulsões induzidas por Eletrochoque auricular, em camundongos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), ** $p < 0,01$; *** $p < 0,0001$ vs grupo controle. Teste t-Student.

6.3.3. Estudo da atividade antinociceptiva

6.3.3.1. Teste das Contorções Abdominais induzidas por Ácido Acético

Neste teste, os resultados mostraram que em todos os grupos tratados com a FCDv, ocorreu aumento na latência para o aparecimento da primeira contorção abdominal nos camundongos, quando comparados ao grupo que recebeu o veículo ($299,8 \pm 34,9$ seg.). Tendo os animais que receberam a dose de 125 mg/kg da FCDv apresentado um latência de $707,9 \pm 135,8$ seg.; os de 250 mg/kg, $999,6 \pm 106,1$ seg.; os de 500 mg/kg, $890,3 \pm 79,47$ seg.; e por fim, os que receberam a morfina, $1127,0 \pm 73,5$ segundos (Gráfico 16).

Gráfico 16. Efeito da FCDv na latência para o aparecimento de contorção abdominal no teste do ácido acético, em camundongos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), * $p < 0,05$; *** $p < 0,0001$ vs grupo controle. Teste Mann Whitney.

Conforme mostra o Gráfico 17, ocorreu diminuição do número de contorções abdominais em todos os grupos nos quais foram administradas a FCDv, quando comparados ao controle, que apresentou $24,3 \pm 2,8$ contorções, obtendo-se as seguintes médias: 125 mg/kg ($10,7 \pm 3,9$), 250 mg/kg ($3,6 \pm 1,8$), 500 mg/kg ($5,3 \pm 1,7$), dessa forma apresentando resultados semelhantes ao da morfina com uma média de $0,7 \pm 0,7$ contorções.

Gráfico 17. Efeito da FCDv no número de contorções abdominais no teste do ácido acético, em camundongos. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), * $p < 0,05$; *** $p < 0,0001$ vs grupo controle. Teste Mann Whitney.

6.3.3.2. Teste da Formalina

Com base no gráfico 18, durante a 1ª fase deste teste, ocorrida nos cinco primeiros minutos após a injeção subplantar da solução de formalina, os camundongos tratados com 250 mg/kg da FCDv demonstraram significativa redução do tempo de lambida da pata com $60,9 \pm 9,8$ segundos, em relação ao controle $91,1 \pm 6,8$. Dessa forma, obtendo-se resultado semelhante ao grupo padrão tratado com morfina $37,5 \pm 4,8$. No grupo tratado com 100 mg/kg de AAS não houve redução significativa do parâmetro avaliado ($81,7 \pm 1,5$).

Gráfico 18 – Efeito da FCDv na 1ª fase do teste da formalina em camundongos tratados via i.p. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), * p < 0,05; *** p < 0,0001 vs grupo controle. Teste t-Student.

Conforme o resultado apresentado no Gráfico 19, a FCDv na dose de 250 mg/kg ($12,3 \pm 10,4$ seg.) diminuiu o tempo de lambida da pata durante a 2ª fase do teste da formalina, quando comparado ao grupo controle ($213,3 \pm 51,6$ seg.). A morfina ($33,7 \pm 8,1$ seg.) e o AAS ($89,7 \pm 11,5$ seg.) também produziram diferença significativa em relação ao controle.

Gráfico 19 – Efeito da FCDv na 2ª fase do teste da formalina em camundongos tratados via i.p. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), * p < 0,05; ** p < 0,05 vs grupo controle. Teste t-Student.

DISCUSSÃO

VII - DISCUSSÃO

Os estudos farmacológicos com a fração clorofórmica de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff (FCDv) no SNC compreenderam inicialmente a avaliação dos efeitos tóxicos, através da triagem farmacológica comportamental, e da determinação da DL_{50} . Depois consistiram em testes gerais e específicos voltados para a avaliação da atividade ansiolítica, sedativa, anticonvulsivante e antinociceptiva.

Para uma observação geral das alterações comportamentais e possíveis efeitos tóxicos do tratamento com a FCDv e conseqüente direcionamento do presente estudo, foi realizada uma triagem farmacológica comportamental preliminar. Neste teste, a FCDv foi administrada intraperitonealmente em quatro doses diferentes; 125, 250, 500 e 1000 mg/kg, para a observação de efeitos sugestivos de atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC) e/ou Sistema Nervoso Autônomo (SNA) (ALMEIDA, 2006).

A dose de 125 mg/kg da FCDv não promoveu alterações comportamentais nos camundongos em relação aos animais do grupo controle. Com o tratamento nas doses de 250, 500 e 1000 mg/kg foram observados efeitos sugestivos de uma possível atividade depressora do SNC, a exemplo de: diminuição da ambulação, resposta ao toque diminuída, sedação (ALMEIDA et al., 1999; FERNÁNDEZ-GUASTI et al., 2001; ARGAL; PATHAK, 2006).

A ambulação diminuída em camundongos é talvez a forma mais comum de verificar se uma substância analisada apresenta efeito depressor do SNC, porém, é muito temerário utilizar apenas esse parâmetro para classificar uma droga. A demora de reação do camundongo em resposta a um toque e um quadro sedativo, representado por sonolência, relaxamento, serenidade e diminuição da atividade motora sem perda da consciência, pode indicar efeito depressor do SNC em animais (ALMEIDA, 2006).

Estes resultados obtidos na triagem farmacológica preliminar são semelhantes ao observado no estudo de Almeida et al., (1999), no qual também foi observada atividade psicodpressora em camundongos submetidos à triagem comportamental tratados com o extrato etanólico bruto de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff.

A determinação da toxicidade aguda (DL_{50}) teve o objetivo de avaliar os seus possíveis efeitos tóxicos, e determinação das doses seguras que poderiam ser utilizadas nos ensaios com os

animais, evitando assim que doses tóxicas pudessem ser administradas e os efeitos observados não fossem fidedignos com a real ação psicofarmacológica da substância em estudo.

De acordo com Brito, 1994, na determinação da DL_{50} , são estabelecidas cinco doses crescentes que englobam uma dose que não provoca morte dos animais, três doses que causam a morte de 10 a 90%, e uma dose que mata 100% dos animais. Uma vez que não foi possível solubilizar a FCDv em doses superiores a 1000 mg/kg, não obtivemos os valores de uma dose que provocasse a morte de 100% dos animais, nem valores intermediários, ficando impossibilitado a realização do cálculo da DL_{50} da FCDv em camundongos, por via i.p..

A dose de 1000 mg/kg foi desconsiderada ao longo dos experimentos posteriores em virtude dos óbitos em 10% dos animais que a receberam, e, além disto, por ter promovido contorções abdominais, bem como aumentado a defecação nos camundongos em relação ao grupo controle. É importante salientar que apesar da fração em estudo ter apresentado um pH ácido, a presença de contorções abdominais só foi observada nos animais tratados com 1000 mg/kg da FCDv, nos primeiros trinta minutos após as administrações.

Baseado nos resultados da triagem comportamental, e na impossibilidade de determinação da DL_{50} buscou-se uma maior identificação desses efeitos observados e assim, melhor caracterizar a atividade da FCDv no SNC, utilizando as doses de 125, 250 e 500 mg/kg pela via i.p., doses seguras e que representariam o real efeito psicofarmacológico da FCDv de modo que os resultados encontrados não estivessem associados a efeitos tóxicos.

No estudo realizado por ALMEIDA et al., 2003, em ratos e camundongos, foi feito tratamento agudo com o extrato hidroalcoólico de *Dioclea grandiflora* nas doses de 250 e 500 mg/kg, e não foram observados efeitos tóxicos.

Como durante a triagem comportamental foi observado que os camundongos tratados com FCDv apresentaram diminuição da ambulação em três doses estudadas, elegeu-se o teste da potencialização do tempo de sono induzido por pentobarbital sódico e o teste da barra giratória *Rota Rod* como testes gerais, para investigar a possível atividade psicodpressora.

Através do teste de potencialização do tempo de sono induzido por pentobarbital sódico é possível avaliar se a substância em estudo tem ação neuro-sedativa, ou ainda se possui um perfil de droga hipnótica (SANTOS; RAO; SILVEIRA, 1996).

O pentobarbital é um fármaco incluído na classe dos barbitúricos. Estes fármacos atuam basicamente nas sinapses onde a neurotransmissão é mediada pelo GABA nos receptores

gabaérgicos do tipo A. Estes receptores são caracterizados por serem canais iônicos permeáveis ao cloreto, onde os barbitúricos agem aumentando a condutância a este íon, e dessa forma, potencializando o efeito inibitório do GABA que é o principal neurotransmissor inibitório central. Os barbitúricos produzem efeitos que vão desde a sedação até alterações respiratórias e cardiovasculares, sendo menos específicos do que outras classes de fármacos (CHARNEY; MIHIC; HARRIS, 2003).

É importante mencionar que o teste da potencialização do sono induzido pelo pentobarbital não é um teste específico, uma vez que drogas desprovidas de ação central, como por exemplo, àquelas que diminuem a captação de oxigênio pelos tecidos ou mesmo às que produzem vasodilatação ou vasoconstrição, potencializam o tempo de sono por interferirem na biotransformação do pentobarbital no complexo do citocromo P450 e assim podem apresentar as mesmas ações de drogas depressoras do SNC (GOLOUBKOVA et al., 1998; GYAMFI et al., 2000).

Neste teste, foi evidenciado uma diminuição na latência, ou seja, período considerado entre a administração do pentobarbital e o início do efeito hipnótico/sono sendo caracterizado pela perda do reflexo de endireitamento, nos animais tratados com 125 e 250 mg/kg da FCDv. Entretanto, a fração estudada, não interferiu no tempo de sono quando comparado ao grupo controle. No geral, drogas depressoras do SNC, reduzem a latência para adormecer e/ou aumentam a duração do tempo de sono (NEVES et al., 2007).

Uma droga estimulante diminuiria o tempo de sono dos animais, o que não ocorreu com a administração da FCDv. Ressalta-se ainda também que a potencialização do tempo de sono pode ainda ser indicativa de uma possível ação tóxica da substância em teste (o fígado, nesse caso, não metaboliza adequadamente o barbiturato), da mesma forma, também um efeito nefrotóxico pode potencializar o tempo de sono (CARLINI et al., 1986).

Portanto, por ter diminuído a ambulação na triagem comportamental, além de outros comportamentos observados, ter reduzido a latência no teste de potencialização do tempo de sono induzido por pentobarbital, e não ter diminuído o tempo de sono dos animais, a FCDv fornece evidências com esses resultados de possuir uma ação do tipo central semelhantes à de drogas depressoras que diminuem a atividade do SNC, e que possivelmente possui uma toxicidade baixa.

O outro teste geral escolhido foi o teste do *Rota Rod*, que é uma metodologia utilizada na triagem de drogas com possível atividade mio-relaxante e consiste em avaliar a coordenação

motora dos animais, através do tempo total de permanência destes em uma barra giratória (CAPASSO, 1996). A falta de coordenação motora no teste do *Rota Rod* é uma característica de agentes farmacológicos, como os relaxantes musculares esqueléticos ou de drogas que diminuem a atividade do SNC, tais como neurolépticos, ansiolíticos, sedativos e hipnóticos (SEN; CHAUDHURI, 1992; PULTRINI; GALINDO; COSTA, 2006).

Ressalta-se, no entanto, que o teste do *Rota Rod* é um método que não é específico, uma vez que mede indistintamente, efeitos neurológicos, estimulantes e depressores sobre a coordenação motora, aos quais também é atribuído o termo neurotoxicidade (DE SOUSA et al., 2007).

Portanto, como não ocorreu redução significativa no tempo de permanência dos animais na barra giratória, aos 30, 60 e 120 minutos após a administração das três doses em estudo (125, 250 e 500 mg/ kg da FCDv), pode-se indicar que o tratamento com a FCDv não interfere na coordenação motora, descartando assim um efeito relaxante muscular ou mesmo uma neurotoxicidade, que é comum a algumas drogas com perfil depressor do SNC.

A partir de todos os resultados apresentados até esta etapa (triagem farmacológica comportamental e testes psicofarmacológicos gerais) há indícios que a FCDv apresente efeitos farmacológicos no SNC. Desta forma, houve um direcionamento para uma avaliação específica da atividade da FCDv que pudesse nos levar a elucidar a qual classe de droga psicotrópica ela pertence.

Drogas que reduzem a atividade do SNC são do grupo dos psicolépticos e dentre eles podemos citar algumas classes como os ansiolíticos, anticonvulsivantes e antinociceptivos. Seguiu-se então, para testes específicos para avaliar a qual dessas classes a FCDv pertenceria, e iniciou-se com a avaliação da atividade ansiolítica e sedativa por meio de dois modelos animais: o teste do Campo Aberto e o teste da placa perfurada ou Hole Board.

A maioria dos modelos experimentais que utilizam animais de laboratório para avaliar a ansiedade baseia-se, principalmente, em situações conflitantes, como por exemplo, colocar o animal num ambiente estranho (“estressante”) ou frente a um predador, gerando assim, algumas alterações comportamentais, acompanhadas de desvios fisiológicos. Assim o que se reproduz nos animais é um estado semelhante à ansiedade no homem, medida através de sinais exteriores, como a atividade exploratória, locomotora e social, que podem ser avaliados por meio de alguns testes (LEITE; SIQUEIRA, 2006).

O teste do campo aberto foi originalmente descrito por Hall em 1934 para o estudo da emocionalidade em ratos. O procedimento consiste em submeter um animal, normalmente, um roedor, em um ambiente desconhecido circundado por paredes que impedem a sua fuga. É um método usado para se avaliar o comportamento exploratório, a reação ao novo, ansiedade, memória, atividade estimulante, além de sedação e atividade locomotora (PRUT; BELZUNG, 2003; ENNACEUR; MICHALIKOVA; CHAZOT, 2006).

Drogas derivadas de plantas usadas na medicina tradicional podem ter relevância terapêutica no tratamento da ansiedade. Pesquisas têm sido conduzidas para a investigação de agentes ansiolíticos naturais em busca de novas alternativas, com menores custos. Vários tipos de plantas medicinais têm sido utilizadas como ansiolíticas em diferentes partes do mundo, importantes exemplos são as raízes da planta kava e do extrato de St. John`s (GRUNDMANN et al., 2007).

Os animais submetidos ao aparelho do Campo Aberto, apresentaram uma diminuição da ambulação, bem como do número de vezes do comportamento de levantar, ao receberem a dose de 250 mg/kg da FCDv. Ocorreu também uma redução na quantidade de bolos fecais dos animais que foram tratados com 125 e 250 mg/kg da FCDv. O tempo de auto-limpeza foi o único parâmetro que não sofreu alteração com as três doses testadas.

A inibição da ambulação e do número de levantar estão relacionadas à drogas que possuem ação sedativa (PRUT; BELZUNG, 2003; HUANG et al., 2007).

A defecação é também um bom indicador da emocionalidade nos animais, e as pesquisas mostram que um alto índice de emocionalidade está relacionado com um aumento na defecação, e que drogas ansiolíticas reduzem a defecação, o que ocorreu com os animais tratados com a FCDv em duas doses diferentes (ANGRINI; LESLIE; SHEPHARD, 1998; SHAW et al., 2007).

O diazepam na dose de 2 mg/kg, usado como um agente sedativo, ocasionou uma sedação em camundongos no teste do campo aberto promovendo uma diminuição da ambulação, do levantar e da defecação no estudo feito por Huang et al., 2007.

Segundo, Shaw et al., 2007, o comportamento de auto-limpeza geralmente aumenta em situações de medo ou ansiedade em roedores e é um índice de adaptação para uma situação estressante. As drogas ansiolíticas diminuem esse comportamento no teste do campo aberto, o que não ocorreu com a fração estudada.

O segundo teste utilizado nesta etapa de avaliação específica dos efeitos psicofarmacológicos da FCDv foi o teste da placa perfurada que foi primeiramente introduzido por Boisser e Simon (1962, 1964), e oferece um método simples para medição das respostas de animais expostos a um ambiente não familiar, com vantagens que muitos comportamentos podem ser observados e quantificados no teste, tais como; o comportamento exploratório, que pode ser verificado pelo número de mergulhos de cabeça dos animais nos orifícios do equipamento, o número de levantar, a latência para o primeiro mergulho e a atividade locomotora (TAKEDA et al., 1998; CHEN et al., 2006).

O tratamento dos camundongos com a FCDv, provocou uma diminuição no número de mergulhos na dose de 250 mg/kg, e de acordo com Adzu et al. (2002b) e Chindo et al. (2003), um agente que diminui este parâmetro no teste da placa perfurada revela um comportamento sedativo.

Segundo Crawley (1985), o aumento do número de mergulhos é característico de drogas ansiolíticas. No estudo de Chindo et al. (2003) utilizou-se o clonazepam na dose de 0,2 mg/kg, e apesar, deste fármaco ser um benzodiazepínico utilizado na clínica médica como ansiolítico, foi observada uma inibição do comportamento exploratório de camundongos, registrados pelo número de mergulhos de cabeça dos animais no aparelho da placa perfurada, sugerindo, atividade sedativa.

Chen, et al., 2006, analisando os efeitos de uma planta utilizada na medicina tradicional chinesa para aliviar os sintomas da ansiedade, verificaram que a mesma possui propriedades ansiolíticas, mesmo não ocorrendo alterações significativas nos parâmetros da latência para o primeiro mergulho, no número de levantar e no número de cruzamentos, semelhante ao ocorrido com os animais tratados com a FCDv submetidos ao teste da placa perfurada, só havendo alteração no parâmetro do número e duração dos mergulhos. Até mesmo o diazepam, droga padrão ansiolítica, falhou em reduzir a latência no experimento dos autores anteriormente citados.

Os estudos investigativos de atividade ansiolítica e sedativa nos dois testes que descrevemos acima sugerem a possibilidade da FCDv possuir efeitos sedativos e ansiolíticos, mais especificamente na dose de 250 mg/kg. Mattei, Leite e Tufik (1995) examinando a ação farmacológica central de sementes de *Dioclea grandiflora* detectou uma possível atividade ansiolítica (ALMEIDA et al., 2003). No estudo feito por Jabbar; Khan e Choudhuri (2001) com o

extrato de *Desmodium gangeticum* DC. (Fabaceae), foi observado atividade depressora no SNC do extrato através dos testes do Campo Aberto e da Placa perfurada.

O desenvolvimento de novas drogas anticonvulsivantes requer escolhas apropriadas de modelos animais de epilepsia para identificação de atividades farmacológicas e toxicológicas, bem como dos mecanismos de ação. Assim, modelos de crises convulsivas em animais de laboratório continuam sendo um pré-requisito em estudos pré-clínicos para o desenvolvimento de novos anticonvulsivantes (LÖSCHER; SCHMIDT, 1988; DE SOUSA et al., 2006).

O teste das convulsões induzidas pelo pentilenotetrazol (PTZ) e o teste do eletrochoque auricular máximo (MES) são dois modelos animais considerados adequados para essas pesquisas, sendo o primeiro um modelo de investigação químico e o último, físico. Tratam-se dos mais comumente utilizados em triagem preliminar de drogas potencialmente anticonvulsivantes, por isso realizamos estes testes para avaliação da atividade anticonvulsivante da FCDv (LÖSCHER; SCHMIDT, 1988; OLIVEIRA et al., 2001; DE SOUSA; QUINTANS; ALMEIDA, 2007; SMITH; WILCOX; WHITE, 2007).

A metodologia das convulsões induzidas quimicamente pelo pentilenotetrazol representa um modelo animal de boa correlação para o estudo de drogas eficazes em prevenir os ataques mioclônicos generalizados e os ataques de ausência (SAYYAH; NADJAFNIA; KAMALINEJAD, 2004), caracterizadas por serem crises com perda breve da consciência, tendo ou não comprometimento motor (CRAIG, 2005).

O pentilenotetrazol inicialmente produz contração muscular (súbita e involuntária) mioclônica, caracterizada por movimentos faciais e inclinação da cabeça, o qual, em seguida, torna-se sustentada e tipicamente resulta em convulsões generalizadas tônico-clônicas (HUOT; RADOUCO-THOMAS, 1973; RHODES; FRYE, 2004).

O PTZ atua inibindo os canais de cloreto associados a receptores GABA_A (LÖSCHER; SCHMIDT, 2002). Além do mais, o PTZ pode induzir convulsões por efeito excitatório direto através das membranas ou por um antagonismo do efeito de substâncias benzodiazepínicas endógenas (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2007). Portanto, sabe-se que o bloqueio das convulsões induzidas quimicamente pelo PTZ em roedores, é uma característica de algumas drogas depressoras do SNC pertencentes à classe dos anticonvulsivantes (ANCA; LAMELA; CALLEJA, 1993), assim como, um aumento na latência para o aparecimento dos ataques

convulsivos, também representa um forte indicativo de atividade anticonvulsivante (HARUNA, 2000).

A FCDv não foi capaz de inibir as convulsões clônicas no teste das quimioconvulsões induzidas pelo pentilenotetrazol, provocando até um aumento no percentual de animais com este tipo de convulsão na dose de 500 mg/kg, já em relação às crises tônico/clônicas houve inibição em todas as doses avaliadas, principalmente nos animais que receberam 250 mg/kg da FCDv. O período entre a administração do PTZ e o início das crises convulsivas (latência) não foi alterado com a administração da FCDv, não apresentando, portanto, indícios de efeito contra crises de ausência e mioclônicas.

Com relação à mortalidade, o grupo tratado com 250 mg/kg de FCDv apresentou menor percentagem de mortes quando comparados ao grupo controle, sendo este grupo o que apresentou uma redução maior do percentual de animais com convulsões do tipo tônico/clônicas, que geralmente culminam em óbitos durante o experimento. Indicando que nesta dose a FCDv pode não ter potencializado os efeitos tóxicos causados pelo PTZ.

Vasconcelos et al. (2007), também não observaram em seu estudo, proteção de convulsões induzidas pelo teste do PTZ, usando uma espécie da família Fabaceae, a *Erythrina mulungu*.

O segundo modelo anticonvulsivante utilizado foi o teste do Eletrochoque auricular máximo, o qual é muito frequentemente usado como um modelo animal para identificação de drogas anticonvulsivantes indicadas no tratamento de crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas (LÖSCHER, 1998; OLIVEIRA et al., 2001). Segundo Guerreiro (2006), este modelo também mostrou ser preditivo de compostos que são efetivos nas crises parciais.

O modelo do eletrochoque é baseado no fato de que repetidas estimulações de pulsos elétricos são capazes de induzirem em diferentes estruturas neuronais uma característica padrão de atividade epilética (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2002).

Crises tônicas induzidas pelo Eletrochoque podem ser prevenidas tanto por drogas que inibem canais para Na⁺ dependentes de voltagem, como a fenitoína, valproato e lamotriginina (ROGAWSKI; PORTER, 1990; MACDONALD; KELLY, 1995; SAYYAH; NADJAFNIA; KAMALINEJAD, 2004) ou por drogas que bloqueiam a excitação glutamatérgica mediada pelo receptor NMDA (N-metil-D-aspartato) (McCABE et al., 1993; SUBRAMANIAM et al., 1995).

A FCDv não foi capaz de inibir o percentual de animais que apresentaram convulsão tônica no teste de convulsões induzidas pelo eletrochoque auricular, e também não interferiu na mortalidade em relação ao grupo controle.

Em relação à duração das convulsões tônicas, houve um aumento deste parâmetro nos animais tratados com a FCDv nas doses de 250 e 500 mg/kg. Sugerindo que a fração em estudo, nestas doses, pela via i.p., não apresenta um perfil semelhante à drogas anticonvulsivantes utilizadas para o tratamento de crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas, e sim um padrão característico de drogas com atividade favorecedora de convulsões do tipo tônica em animais de laboratório neste modelo experimental.

O extrato de *Clitoria ternatea* (Fabaceae), na investigação feita por Jain et al. (2003), reduziu as convulsões induzidas pelo PTZ e pelo teste do Eletrochoque.

Conforme descreveremos abaixo, a FCDv apresentou efeito antinociceptivo tanto em nível central como periférico, e é relatado na literatura que o AAS (ácido acetil salicílico), o protótipo dos antiinflamatórios não-esteroidais, apesar da eficácia e segurança como agente analgésico e antirreumático, é necessário considerar seu potencial tóxico, uma vez que, dentre outros efeitos, os salicilatos, podem, por exemplo, produzir efeitos tóxicos no SNC que consistem em estimulação excessiva, inclusive convulsões generalizadas, fato este que pode ter ocorrido nos camundongos que receberam a FCDv no teste do Eletrochoque (RANG et al., 2004; BURKE; SMYTH; FITZGERALD, 2006).

Para análise da possível atividade antinociceptiva da FCDv foram utilizadas duas metodologias comportamentais para indução de nocicepção: o teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético, que produz estímulo nociceptivo químico em nível periférico com componente medular, e, o teste da formalina, um modelo animal com estimulação de nociceptores que resulta em um modelo bifásico de comportamentos indicativos de dor.

O teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético é um modelo experimental usado para triagem de drogas com atividade analgésica, baseado na irritação causada após injeção intraperitoneal de uma solução de ácido acético. Esta injeção pode produzir uma inflamação peritoneal caracterizada por contrações dos músculos abdominais seguidos de extensões dos membros posteriores (KOSTER; ANDERSON; DEBBER, 1959; NARDI et al., 2006).

Foi escolhido por ser um teste simples, rápido e confiável para avaliar a atividade antinociceptiva de substâncias (SHINDE et al., 1999), embora, seja de um modo geral,

caracterizado por ser uma metodologia de baixa especificidade, uma vez que é sensível aos anti-inflamatórios não esteroidais, narcóticos, e outras drogas de ação central, anticolinérgicos e anti-histamínicos (ALEXANDRE-MOREIRA et al., 1999; BASTOS et al., 2006).

A resposta nociceptiva frente ao ácido acético pode envolver uma estimulação direta das fibras aferentes nociceptivas, devido a uma redução do pH ou uma síntese de mediadores da inflamação, a exemplo dos metabólitos do ácido araquidônico pela via da COX, com conseqüente biossíntese de prostaglandinas (DUARTE; NAKAMURA; FERREIRA, 1988; FRANZOTTI et al., 2000) tais como aumento dos níveis de prostaglandinas E_2 e $F_{2\alpha}$ no fluido peritoneal (DERAEDT et al., 1976, 1980; VASCONCELOS et al., 2003). Estudos realizados por Ribeiro et al. (2000) demonstraram que a atividade nociceptiva do ácido acético pode ainda ser devido à liberação de citocinas, tais como, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina- β 1 e interleucina-8, por macrófagos e mastócitos peritoneais (BASTOS et al., 2006).

O tratamento com a FCDv provocou um aumento na latência para primeira contorção abdominal nos camundongos e uma redução do número de contorções abdominais nos três grupos experimentais, de maneira semelhante ao grupo padrão tratado com morfina, sendo observado que as alterações destes parâmetros não foram de maneira dose dependente.

Com isso, ficou demonstrada a eficácia da FCDv no teste das contorções induzidas por ácido acético, o que nos leva a propor que a FCDv apresenta atividade antinociceptiva e/ou estaria inibindo a liberação de mediadores inflamatórios ou citocinas. O fármaco padrão utilizado nesse teste foi à morfina, um analgésico central, protótipo da classe dos opiáceos, que em outros estudos causou significativa inibição da dor induzida pelo ácido acético (BASTOS et al., 2006).

Estes resultados são similares aos obtidos por Batista, Almeida e Bhattacharyya (1995) com uma fração aquosa e com um flavonóide, a diocleína, obtidos do extrato etanólico de *Dioclea grandiflora* quanto aos efeitos inibitórios nas contorções induzidas por ácido acético. Entre outras espécies de plantas da família Fabaceae avaliadas na metodologia do ácido acético, pode-se citar que o extrato hidroalcoólico de *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu*, o extrato aquoso de *Desmodium gangeticum* DC., bem como o extrato e algumas frações obtidas de *Erythrina crista-galli*, reduziram o número de contorções abdominais nos roedores analisados (JABBAR; KHAN; CHOUDHURI, 2001; VASCONCELOS et al., 2003; FISCHER et al., 2007).

Na tentativa de melhor caracterizar a atividade da FCDv encontrada no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético, já que neste método atuam indiferentemente

substâncias tanto centrais quanto periféricas (AMRESH; SINGH; RAO, 2007), realizou-se o modelo da formalina, utilizando a FCDv na dose de 250 mg/kg.

Este teste é um modelo seguro e válido de nociceção sensível a várias classes de drogas analgésicas. A formalina produz uma resposta bifásica distinta onde drogas analgésicas podem atuar diferentemente na primeira e segunda fase do teste (MORTEZA-SEMNANI et al., 2002).

A primeira fase do modelo da formalina tem duração de poucos minutos e inicia-se logo após a injeção da solução de formalina na superfície plantar do animal, ocorre devido à liberação de substância P e estimulação química nociceptiva direta de fibras aferentes, principalmente fibras C (HEAPY; JAMIESON; RUSSEL, 1987; SHIBATA et al., 1989). Reflete o componente neurogênico da nociceção, sendo sensível principalmente a drogas que agem em nível central, como os opióides (FERREIRA et al., 2006).

Entre a primeira e segunda fase do teste da formalina, há um período de repouso chamado de “interfase” que ocorre devido a uma ativação de processos inibitórios não regulados por mecanismos que envolvem o GABA, já que agonistas gabaérgicos tipo A inibem a diminuição de manifestações de dor durante esse período (HENRY et al., 1999; LIRA, 2001).

O componente inflamatório de resposta nociceptiva (segunda fase) inicia-se depois do período de 10 a 15 minutos da “interfase”, e resulta da liberação de mediadores inflamatórios, tais como, bradicinina, histamina, aminas simpaticomiméticas, fator de necrose tumoral- α e interleucinas (FERREIRA et al., 2006), ou por uma facilitação da transmissão sináptica espinhal (TJOLSEN et al., 1992; FRANÇA et al., 2001).

É interessante considerar que drogas de ação central, tais como os analgésicos opióides inibem ambas as fases do teste da formalina, entretanto, drogas de ação periférica, como os antiinflamatórios somente são eficazes na segunda fase (SHIBATA et al., 1989; MIÑO et al., 2002). Segundo Hunskaar e Hole (1987), a segunda fase é sensível tanto a antiinflamatórios não-esteroidais quanto aos corticosteróides.

A partir dos resultados apresentados (Gráficos 18 e 19) observou-se que a FCDv produziu uma redução da resposta nociceptiva em ambas as fases do teste da formalina, de modo semelhante à morfina e outras drogas analgésicas de ação central, que são amplamente efetivas em prevenir a dor induzida pela formalina nas duas fases do teste (BASTOS et al., 2006), indicando, portanto, que o efeito antinociceptivo da FCDv apresente um componente central.

Como esperado, o efeito analgésico produzido pelo AAS foi evidente apenas na segunda fase deste teste (RUJJANAWATE; KANJANAPOTHI; PANTHONG, 2003). De acordo com Bastos et al. (2006), os antiinflamatórios não-esteroidais, tais como o AAS, acetaminofeno, a indometacina e o diclofenaco, conhecidos por inibirem a atividade da ciclooxigenase (COX), são em grande parte, inefetivos ou causam uma fraca inibição da 1ª fase do teste da formalina (MALMBERG; YAKSH, 1992; SANTOS; VEDANA; FREITAS, 1998; AMRESH; SINGH; RAO, 2007).

Outros estudos em plantas da família Fabaceae, tais como o extrato hidroalcoólico de *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu*, frações obtidas de *Erythrina crista-galli* e o extrato metanólico de *Neorautanenia mitis* demonstraram inibição das duas fases da dor no teste da formalina, sugerindo que a atividade antinociceptiva pode ser mediada tanto periféricamente como em nível de SNC, semelhante ao ocorrido com a FCDv (VASCONCELOS et al., 2003; VONGTAU et al., 2004; FISCHER et al., 2007).

Os resultados apresentados neste trabalho mostram os efeitos promissores da FCDv no SNC. Entretanto, estudos adicionais são necessários para melhor aprofundar e caracterizar as possíveis atividades ansiolíticas-sedativas, e antinociceptivas da FCDv, bem como elucidar o mecanismo molecular de ação.

CONCLUSÕES

VIII - CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos na caracterização da atividade psicofarmacológica da Fração Clorofórmica de *Dioclea virgata* (Rich.) Amshoff (FCDv) em modelos animais, conclui-se que, nas doses utilizadas e via testada:

⇒ A FCDv induziu alterações comportamentais sugestivas de droga psicoléptica, ou seja, depressora do SNC;

⇒ A FCDv apresentou indícios de possuir uma toxicidade baixa, baseado no observado durante a triagem farmacológica comportamental;

⇒ Não promoveu relaxamento muscular, incoordenação motora, ou neurotoxicidade por não ter alterado o tempo de permanência na barra giratória no teste do *Rota Rod*;

⇒ Apresentou características de droga com possíveis perfis ansiolítico e sedativo baseados nos resultados dos testes do Campo Aberto e da Placa Perfurada;

⇒ Não se mostrou efetiva em inibir as convulsões induzidas por pentilenotetrazol, nem pelo eletrochoque auricular, o que indica não apresentar atividade anticonvulsivante nestes testes;

⇒ Apresentou atividade antinociceptiva evidenciada no teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, e em ambas as fases do teste da formalina, indicando que esta atividade provavelmente pode ser mediada tanto periféricamente como em nível de SNC.

PERSPECTIVAS

IX - PERSPECTIVAS

Baseado nos resultados e conclusões obtidas propõe-se as seguintes perspectivas futuras para complementar o estudo da FCDv:

- ⇒ Investigar o efeito da FCDv no SNC por via oral;

- ⇒ Aprofundar o estudo através do uso de metodologias ainda mais específicas que possam investigar com detalhes os efeitos ansiolítico-sedativos e antinociceptivos;

- ⇒ Analisar o efeito do tratamento sub-crônico com a FCDv para verificar a eventual tolerância farmacológica ou efeitos tóxicos;

- ⇒ Observar se os possíveis efeitos ansiolítico-sedativo e antinociceptivo da FCDv são revertidos por antagonistas de receptores, a fim de se obter dados sobre o mecanismo de ação da FCDv;

- ⇒ Realizar estudos *in vitro*, como testes eletrofisiológicos que auxiliam a elucidar o mecanismo de ação da FCDv.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABID, M.; HRISHIKESHAVAN, H. J.; ASAD, M. Pharmacological evaluation of *Pachyrrhizus erosus* (L) seeds for central nervous system depressant activity. **Indian Journal of Physiology & Pharmacology**, v. 50, n. 2, p. 143-151, 2006.

ADZU, B.; AMOS, S.; DZARMA, S.; WAMBEBE, C.; GAMANIEL, K. Effect of *Zizyphus spina-christi* Willd aqueous extract on the central nervous system in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 13-16, 2002a.

ADZU, B.; AMOS, S.; MUAZZAM, I.; INYANG, U. S.; GAMANIEL, K. Neuropharmacological screening of *Diospyros mespiliformis* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, p. 139-143, 2002b.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

AHMAD, I.; MEHMOOD, Z.; MOHAMMAD, F. Screening of some Indian medicinal plants of their antimicrobial properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, p. 183-193, 1998.

ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; PIUVEZAM, M. R.; ARAÚJO, C. C.; THOMAS, G. Studies on anti-inflammatory and analgesic activity of *Curatella americana* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, p. 171-177, 1999.

ALI, B. H.; BASHIR, A. K.; TANIRA, M. O. Some effects of *Cassia italica* on the central nervous system in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 49, n. 5, p. 500-504, 1997.

ALMEIDA, A. P.; CÔRTEZ, S. F.; FERREIRA, A. J.; LEMOS, V. S. Increase on the coronary flow induced by dioclein in isolated rat heart. **Life Sciences**, v. 70, n. 10, p. 1121-1128, 2002.

ALMEIDA, E. R.; ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; BHATTACHARYYA, J.; SILVA, B. A.; BIRNBAUM, J. S. P. Central antinociceptive effect of a hydroalcoholic extract of

Dioclea grandilora seeds in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, n. 1, p. 1-4, 2003.

ALMEIDA, R. N. Modulação da dor através do uso de plantas medicinais com atividade central. **Arquivos Brasileiros de Fitoterapia Científica**, v. 1, p. 6-18, 2003.

ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: Fundamentos práticos**, 1ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 357p.

ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A. C. G. M.; DINIZ, R. S. T.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; POLARI, R. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; DUARTE, J. C.; FERREIRA, C. D.; ANTONIOLLI, A. R.; ARAUJO, C. C. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no sistema nervoso central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 80, n.3-4, p. 72-76, 1999.

ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; AGRA, M. F.; MAJETICH, G.; BHATTACHARYYA, J. Analgesic effect of dioclenol and dioflorin isolated from *Dioclea grandiflora*. **Pharmaceutical Biology**, v. 38, p. 394-395, 2000.

AMRESH, G.; SINGH, P. N.; RAO, C. V. Antinociceptive and antiarthritic activity of *Cissampelos pareira* roots. **Journal of Ethnopharmacology** (2007), doi:10.1016/j.jep.2006.12.026.

ANCA, J. M.; LAMELA, M., CALLEJA, J.M. Activity on the central nervous system of *Himantalia elongata*. **Planta Medica**, v. 59, p. 218-21, 1993.

ANGRINI, M.; LESLIE, J. C.; SHEPHARD, R. A. Effects of propranolol, buspirone, pCPA, reserpine, and chordiazepoxide on open-field behaviour. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 59, p. 387-397, 1998.

ARGAL, A.; PATHAK, A. K. CNS activity of *Calotropis gigantea* roots. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, p. 142–145, 2006.

ATTAL, N. Chronic neuropathic pain: mechanisms and treatment. **Clinical Journal of Pain**, v. 16, p. 118–130, 2000.

BALDESSARINI, R. J.; TARAZI, F. I. Tratamento Farmacológico da Psicose e da Mania. In: BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 11ª Ed. Rio de Janeiro: Ed. McGraw Hill, 2006. Cap. 18, p. 411-446.

BARBOSA, T.; ARRUDA, S.; CAVADA, B.; GRANGEIRO, T. B.; FREITAS, L. A. R.; BARRAL-NETTO, M. In Vivo Lymphocyte Activation and Apoptosis by Lectins of the *Diocleinae* subtribe. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 5, p. 673-678, 2001.

BARBOSA, A. Um fundo nacional para custear os serviços farmacêuticos nas pequenas farmácias. **Pharmacia Brasileira**, n. 55, p. 38-40, 2006.

BARRAL-NETTO, M.; SANTOS, S. B.; BARRAL, A.; MOREIRA, L. I.; SANTOS, C. F.; MOREIRA, R. A.; OLIVEIRA, J. T.; CAVADA, B. S. Human lymphocyte stimulation by legume lectins from the Diocleae tribe. **Immunological Investigations**, v. 21, n. 4, p. 297-303, 1992.

BARREIROS, A. L.; DAVID, J. P.; DE QUEIROZ, L. P.; DAVID, J. M. A-type proanthocyanidin antioxidant from *Dioclea lasiophylla*. **Phytochemistry**, v. 55, n. 7, p. 805-808, 2000.

BARRET, J. E.; MICZEK, K. A. Behavioral techniques in preclinical neuropsychopharmacology research. In: Bloom, F. E.; Kupfer, D. J. editors. **Psychopharmacology: the fourth generation of progress**. New York: Raven Press; 1995. p. 65-73.

BARROS, N. N.; ROSSETTI A. G.; CARVALHO, R. B. Feno de cunhã (*Clitoria ternatea* L.) para acabamento de cordeiros. **Ciência Rural**, v.34, n.2, 2004.

BASTOS, G. N. T.; SANTOS, A. R. S.; FERREIRA, V. M. M.; COSTA, A. M. R.; BISPO, C. I.; SILVEIRA, A. J. A.; DO NASCIMENTO, J. L. M. Antinociceptive effect of the aqueous extract obtained from roots of *Physalis angulata* L. in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 241-245, 2006.

BATISTA, J. S. **Estudo Químico e farmacológico das cascas das raízes da *Dioclea grandiflora* Mart ex Benth.** 1993. 85f. Dissertação de Mestrado (Mestre em Produtos Naturais - Farmacologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 1993.

BATISTA, J. S.; ALMEIDA, R. N.; BHATTACHARYYA, J. Analgesic effect of *Dioclea grandiflora* constituents in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 45, n. 3, p. 207-210, 1995.

BERMUDEZ, J. A. Z. Indústria farmacêutica, estado e sociedade. São Paulo: Hucitec, 1995, 204p.

BHATTACHARYYA, J.; MAJETICH, G.; JENKINS, T. M.; ALMEIDA, R. N. Dioflorin, a Minor Flavonoid from *Dioclea grandiflora*. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 3, p. 413-414, 1998.

BLIER, P.; ABBOT, F. V. Putative mechanisms of action of antidepressant drugs in affective and anxiety disorders and pain. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, v. 26, n. 1, p. 37-43, 2001.

BLOOM, F. E. Neurotransmissão e o Sistema Nervoso Central. In: BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 11ª Ed. Rio de Janeiro: Ed. McGraw Hill, 2006. Cap. 12, p. 198-216.

BOISSER, J. R.; SIMON, P. La reaction dexploration chez la souris. **Therapie**, v. 17, p. 1225–1232, 1962.

BOISSER, J. R.; SIMON, P. Dissociation de deux composantes dans le compartiment dinvestigation de la souris. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie**, v. 147, p. 372–387, 1964.

BOTELHO, F. V.; ALVAREZ-LEITE, J. I.; LEMOS, V.S.; PIMENTA, A. M.; CALADO, H. D.; MATENCIO, T.; MIRANDA, C. T.; PEREIRA-MAIA, E. C. Physicochemical study of floranol, its copper(II) and iron(III) complexes, and their inhibitory effect on LDL oxidation. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 101, n. 6, p. 935-943, 2007.

BRITO, A. S. **Manual de Ensaios Toxicológicos *in vivo***, 1ª Ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1994, p. 15-30.

BUENO, N. R.; FRITZ, H.; AUERSWALD, E. A.; MENTELE, R.; SAMPAIO, M.; SAMPAIO, C. A.; OLIVA, M. L. Primary structure of *Dioclea glabra* trypsin inhibitor, DgTI, a Bowman-Birk inhibitor. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 261, n. 3, p. 838-843, 1999.

BURKE, A.; SMYTH, E.; FITZGERALD, G. A. Analgésicos-Antipiréticos: Farmacoterapia da Gota. In: BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 11ª Ed. Rio de Janeiro: Ed. McGraw Hill, 2006. Cap. 26, p. 601-638.

BUTCHER, E.C. Can cell systems biology rescue drug discovery? **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, n. 6, p. 461-467, 2005.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 179, 2000.

CALIXTO, J. B.; BEIRITH, A.; FERREIRA, J.; SANTOS, A. R. S.; FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Naturally occurring antinociceptive substance from plants. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 401-418, 2000.

CAPASSO, A.; DE FEO, V.; DE SIMONE, F.; SORRENTINO, L. 1996. Pharmacological effect of the aqueous extract from *Valeriana adscendeus*. **Phytotherapy Research**, v. 10, p. 309–312, 1996.

CARLINI, E. A.; CONSTAR, J. D. P.; SILVA-FILHO, A. R.; SILVEIRA-FILHO, N. G.; FROCHTENGARTEN, M. I.; BUENO, O. V. A. Pharmacology Of Lemon-Grass (*Cymbopogon citrates* Stapf.). Effects of teas prepared from leaves on laboratory-animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 17, p. 37-64, 1986.

CARLINI, E. A. **Estudo da ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras: *Maytenus ilicifolia* (espineira santa) e outras**. Brasília: CEME/AFIP, 1988.

CARLINI, E. A. **Medicamentos Drogas e Saúde**. São Paulo: Ed. Hucitec/Sobravime, 1995.

CARLINI, E. A.; BURGOS, V. Screening farmacologico de Ansiolíticos: Metodologia Laboratorial e comparação entre o diazepam e o clorobenzapam. **Revista da Associação Brasileira de Psiquiatria**, v. 1, p. 25-31, 1979.

CHARNEY, D. S.; MIHIC, S. J.; HARRIS, R. A. Hipnóticos e sedatives. In: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 10ª Ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003. cap. 17, p. 303-324.

CHEN, S. W.; WANG, W. J.; LI, W. J.; WANG, R.; LI, Y. L.; HUANG, Y. N.; LIANG, X. Anxiolytic-like effect of asiaticoside in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 85, p. 339-344, 2006.

CHINDO, B. A.; AMOS, S.; ODUTOLA, A. A.; VONGTAU, H. O.; ABBAH, J.; WAMBEBE, C.; GAMANIEL, K. S. Central nervous system activity of the ethanol extract of *Ficus platyphylla* stem bark. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, p. 131-137, 2003.

CLUFF, R. S. Adjuvant treatments. In: Ballantyne J, Fishman SM, Abdi S, editors. **The Massachusetts General Hospital Handbook of Pain Management**. 2ª Ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2002.

COLLIER, H. O. J.; DINNEN, L. C.; JONSONSON, C. A.; SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in mouse. **British Journal of Pharmacology**, v. 32, p. 295-310, 1968.

COOPER, J. R.; BLOMM, F. E.; ROTH, R. H. **The Biochemical Basis of Neuropharmacology**. New York: Oxford University Press, 1996.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

CRAIG, C. R. Agentes antiepilépticos. In: CRAIG, C. R.; STITEL, R. E. **Farmacologia Moderna com Aplicações Clínicas**, 6ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, cap. 32, p. 350-360.

CRAWLEY, J. N. Exploratory behaviour models of anxiety in mice. **Neuroscience and Behavioural Review**, v. 9, p. 37-44, 1985.

DAILEY, J. W. Fármacos sedative-hipnóticos e ansiolíticos. In: CRAIG, C. R.; STITEL, R. E. **Farmacologia Moderna com Aplicações Clínicas**, 6ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, cap. 30, p. 333-340.

DE FEO, V.; CAPASSO, A.; DE SIMONE, F.; SORRENTINO, L. CNS pharmacological effects of aqueous extract from *Iresine herbstii*. **Internacional Journal Pharmacognosy**, v. 34, p. 184-188, 1996.

DERAEDT, R.; JOUGNEY, S.; BENZONI, J.; PETERFALVI, M. Inhibitions of prostaglandins biosynthesis by non-narcotic analgesic drugs. **Archives Internationales pharmacodynamic therapeutics**, v. 224, p. 30-42, 1976.

DERAEDT, R.; JOUGNEY, S.; DELAVALÉE, F.; FLAHAUT, M. Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. **European Journal of Pharmacology**, v. 61, p. 17-24, 1980.

DE SOUSA, D. P.; GONÇALVES, J. C. R.; QUINTANS-JÚNIOR, L.; CRUZ, J. S.; ARAÚJO, D. A. M.; ALMEIDA, R. N. Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents. **Neuroscience Letters**, v. 401, p. 231-235, 2006.

DE SOUSA, D. P.; NÓBREGA, F. F. F.; CLAUDINO, F. S.; ALMEIDA, R. N.; LEITE, J. R.; MATTEI, R. Pharmacological effects of the monoterpene α , β -epoxi-carvone in mice. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 1, p. 23-28, 2007.

DE SOUSA, D. P.; QUINTANS, JR. L.; ALMEIDA, R. N. Anticonvulsant Activity of α -Terpineol. **Pharmaceutical Biology**, v. 45, n. 1, p. 69-70, 2007.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. New York: John Wiley Ed., 1998.

DICKSON, M; GAGNON, J. P. Key factors in the rising cost of new drug discovery and development. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.3, n.5, p. 417-429, 2004.

DIMASI, J. A.; HANSEN, R. W.; GRABOWSKI, H.G. The price of innovation: new estimates of drug development costs. **Journal of Health Economics**, v. 22, n. 2, p. 151-185, 2003.

DI STASI, L. C. **Plantas Medicinais: Arte e Ciência um Guia de Estudo Interdisciplinar**. São Paulo: Ed. da UNESP, 1996. 230p.

DUARTE, I. D. G.; NAKAMURA, M.; FERREIRA, S. H. Participation of the sympathetic system in acetic acid-induced writhing in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 21, p. 341-343, 1988.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v.16, n.3, p. 208-209, 1957.

EATON, D. L.; KLAASSEN C. D. Principles of toxicology. In: KLAASSEN, C. D.; AMADUR, M. O.; DOULL, J. Casarett and Doull's Toxicology. **The basic science of poisons**, 5ª Ed. New York: Ed. MacGraw-Hill, p. 13-34, 1996.

ELISABETSKY, E. Fitoterapia com base científica. **Ciência Hoje**, v. 31, n. 182, p. 78-79, 2002.

ENNACEUR, A.; MICHALIKOVA, S.; CHAZOT, P. L. Models of anxiety: Responses of rats to novelty in an open space and an enclosed space. **Behavioural Brain Research**, v. 171, p. 26-49, 2006.

FARNSWORTH, N. R.; AKERELE, O.; BINGEL, A. S.; SOEJARTO, D. D.; GUO, Z. Medicinal plants in therapy. **Bulletin of the World Health Organ**, v. 63, n. 6, p. 965-81, 1985.

FARNSWORTH, N. R.; MORRIS R. W. Higher plants – the sleeping giant of drug development. **American Journal of Pharmaceutical Education**, v. 148, p. 46, 1976.

FERNÁNDEZ-GUASTI A.; FERREIRA, A.; PICAZO, O. Diazepam, but not buspirone, induces similar anxiolytic-like actions in lactating and ovariectomized Wistar rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 70, p. 85–93, 2001.

FERREIRA, A. A.; AMARAL, F. A.; DUARTE, I. D. G.; OLIVEIRA, P. M.; ALVES, R. B.; SILVEIRA, D.; AZEVEDO, A. O.; RASLAN, D. S.; CASTRO, M. S. A. Antinociceptive effect from *Ipomoea cairica* extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 148-153, 2006.

FISHER, R. S. Animal models of the epilepsies. **Brain Research Reviews**, v. 14, p. 245-278, 1989.

FISCHER, L. G. O.; LEITÃO, R.; ETCHEVERRY, S. R.; CAMPOS-BUZZI, F.; VÁZQUEZ, A. A.; HEINZEN, H. A.; CECHINEL FILHO, V. Analgesic properties of extracts and fractions from *Erythrina crista-galli* (Fabaceae) leaves. **Natural Product Research**, v. 21, p. 759-766, 2007.

FRANCO, I. J.; FONTANA, V. L. **Ervas e Plantas – A medicina dos simples**. 7ª Ed. Erexim: Livraria Vida Ltda, 2002.

FRANÇA, D. S.; SOUZA, A. L. S.; ALMEIDA, K. R.; DOLABELLA, S. S.; MARTINELLI, C.; COELHO, M. M. B vitamins induce na antinociceptive effect in the acetic acid and formaldehyde models of nociception in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 421, p. 157-164, 2001.

FRANZOTTI, E. M.; SANTOS, C. V. F.; RODRIGUES, H. M. S. L.; MOURÃO, R. H. V.; ANDRADE, M. R.; ANTONIOLLI, A. R. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 273-278, 2000.

GATSING, D.; NKENG, P. E. A.; KUIATE, J. R.; ADOGA, G. I. C. Antisalmonellal properties and acute toxicity study of *Erythrina klainei* Pierre (Fabaceae) bark extracts and fractions. **Research & Reviews in BioSciences**, v. 1, p. 35-41, 2007.

GHOSAL, S.; BHATTACHARYA, S. K. Desmodium alkaloids. II. Chemical and pharmacological evaluation of *D. gangeticum*. **Planta Medica**, v. 22, n. 4, p. 434-440, 1972.

GOLOUBKOVA, T. D.; HECKLER, E.; RATES, S. M. K.; HENRIQUES, J. A. P.; HENRIQUES, A. T. Inhibition of cytochrome P450-dependent monooxygenases by an alkaloid fraction from *Helietta apiculata* markedly potentiate the hypnotic action of pentobarbital. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 60, p. 141–148, 1998.

GORENSTEIN, C.; SCAVONE, C. Advances in psychopharmacology: mechanism of action of psychoactive drugs today. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, n. 1, p. 64-72, 1999.

GRUNDMANN, O.; NAKAJIMA, J.; SEO, S.; BUTTERWECK, V. Anti-anxiety effects of *Apocynum venetum* L. in the elevated plus maze test. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 406-411, 2007.

GUERREIRO, C. A. M. História do Surgimento e Desenvolvimento das Drogas Antiepilépticas. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 12, p. 18-21, 2006.

GUTSTEIN, H. B.; AKIL, H. Analgésicos opióides. In: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 10ª Ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003. cap. 23, p. 427-464.

GYAMFI, M. A.; HOKAMA, N.; OPPONG-BOACHIE, K.; ANIYA, Y. Inhibitory effects of the medicinal herb, *Thonningia sanguinea*, on liver drug metabolizing enzymes of rats. **Human and Experimental Toxicology**, v. 19, p. 623–631, 2000.

HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3864-7, 1991.

HARUNA, A. K. Depressant and anticonvulsant properties of the root decoction of *Afromosia taxiflora* (Leguminosae). **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 57-59, 2000.

HEAPY, C. G.; JAMIESON, A.; RUSSEL, N. J. W. Afferent C-fibre and A- δ activity in models of inflammation. **British Journal of Pharmacology**, v. 90, p. 164, 1987.

HENMAN, A. R. **Vida Natural. O Guaraná: sua cultura, propriedades, formas de preparação e o uso.** São Paulo: Editora Global/Ground, p. 77, 1986.

HENRY, J. L.; YASHPAL, K.; PITCHER, M. G.; CODERRE, T. J. Physiological evidence that the “interphase” in the formalin test is due active inhibition. **Pain**, v. 87, p. 57-63, 1999.

HUANG, F. C.; KUTCHAN, T. M. Distribution of morphinan and benzo[c]phenanthridine alkaloid gene transcript accumulation in *Papaver somniferum*. **Phytochemistry**, v. 53, p. 555-564, 2000.

HUANG, F.; XIONG, Y.; XU, L.; MA, S.; DOU, C. Sedative and hypnotic activities of the ethanol fraction from *Fructus schisandrae* in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 471-475, 2007.

HUNSKAAR, S.; FASMAR, O. B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, p. 69-76, 1985.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, p. 103-104, 1987.

HUOT, J.; RADOUCO-THOMAS, C. Qualitative and quantitative evaluation of experimentally-induced seizures. In: Mercier, J., editor. **Anticonvulsant Drugs**, v. 1. Oxford: Pergamon; p. 123-185, 1973.

JABBAR, S.; KHAN, M. T.; CHOUDHURI, M. S. The effects of aqueous extracts of *Desmodium gangeticum* DC. (Leguminosae) on the central nervous system. **Pharmazie**, v. 56, p. 506-508, 2001.

JAIN, S. C.; JAIN, R.; SHARMA, R. A.; CAPASSO, F. Pharmacological investigation of *Cassia italica*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 58, p. 135-142, 1997.

JAIN, N. N.; OHAL, C. C.; SHROFF, S. K.; BHUTADA, R. H.; SOMANI, R. S.; KASTURE, V. S.; KASTURE, S. B. *Clitoria ternatea* and the CNS. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 75, n. 3, p. 529-536, 2003.

JOSHI, H.; PARLE, M. Antiamnesic Effects of *Desmodium gangeticum* in Mice. **Yakugaku Zasshi**, v. 126, p. 795-804, 2006.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 8ª Edição, 2003.

KAUR, S.; MICHAEL, H.; ARORA, S.; HÄRKÖNEN, P. L.; KUMAR, S. The in vitro cytotoxic and apoptotic activity of Triphala--an Indian herbal drug. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 1, p. 15-20, 2005.

KHIARI, J.; HASSINI, B. B.; GRAVEL, D. Méthodologie de synthèse des analogues à chaînes ouvertes de l'huperzine A. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v. 4, p. 705, 2001.

KITANO, Y.; USUI, C.; TAKASUNA, K.; HIROHASHI, M.; NOMURA, M. Increasing-current electroshock seizures test: a new method for assessment of anti and pro-convulsant activities of drugs in mice. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 35, p. 25-29, 1996.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DEBBER, E. J. Acetic acid for analgesic screening. **Federation Proceedings**, v. 18, p. 412-414, 1959.

KURIAN, G. A.; PHILIP, S.; VARGHESE, T. Effect of aqueous extract of the *Desmodium gangeticum* DC root in the severity of myocardial infarction. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 457-461, 2005.

LAPA, A. J., LIMA, T. C. M. **Curso de validação de plantas medicinais com atividade no Sistema Nervoso Central**. Florianópolis, Santa Catarina. Programa Iberoamericano de Ciências e Tecnologia para o Desenvolvimento/Rede Iberoamericana de Validação de Plantas Medicinais, 1997.

LEE, M. H.; KIM, J. Y.; RYU, J. H. Prenylflavones from *Psoralea corylifolia* inhibit nitric oxide synthase expression through the inhibition of I-kappaB-alpha degradation in activated microglial cells. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 12, p. 2253-2257, 2005.

LEITE, J. R.; SIQUEIRA, J. S. Métodos para avaliar drogas ansiolíticas. In: ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**, 1ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 14, p. 154-160.

LEMOS, V. S.; FREITAS, M. R.; MULLER, B.; LINO, Y. D.; QUEIROGA, C. E.; CÔRTEZ, S. F. Dioclein, a new nitric oxide- and endothelium-dependent vasodilator flavonoid. **European Journal of Pharmacology**, v. 386, n. 1, p. 41-46, 1999.

LEMOS, V. S.; CÔRTEZ, S. F.; SANTOS, M. H.; ELLENA, J.; MOREIRA, M. E. C.; DORIGUETTO, A. C. Structure and Vasorelaxant Activity of Floranol, a Flavonoid Isolated from the Roots of *Dioclea grandiflora*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 3, p. 635-645, 2006.

LIM, R. F.; HILTY, D. M.; JERANT, A. F. An algorithm for treating psychotic disorders in primary care. **Primary Psychiatry**, v. 8, n. 8, p. 68-72, 2001.

LIRA, S. R. S. **Efeitos farmacológicos do extrato etanólico de *Combretum leprosum* Mart. & Eicher sobre o sistema nervoso central**. 2001. 70f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

LITCHFIELD, L. T.; WILCOXON, F. A simplified method of evaluation dose-effect experiments. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 19, p. 388-397, 1949.

LÖSCHER, W. New visions in the pharmacology of anticonvulsion. **European Journal of Pharmacology**, v. 342, p. 1-13, 1998.

LÖSCHER, W.; SCHMIDT, D. Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. **Epilepsy Research**, v. 2, p. 145-181, 1988.

LÖSCHER, W.; FASSBENDER, C. P.; NOFTING, B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. II. Maximal Electroshock seizures models. **Epilepsy Research**, v. 8, p. 79-94, 1991.

LÖSCHER, W., SCHMIDT, D. New horizons in the development of antiepileptic drugs. **Epilepsy Research**, v. 50, p.3-16, 2002.

MACDONALD, R. L.; KELLY, K. M. Antiepileptic drug mechanisms of action. **Epilepsia**, v. 36, p. 2-12, 1995.

MALMBERG, A. B.; YAKSH, T. L. Antinociceptive actions of spinal nonsteroidal and anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 263, p. 136-146, 1992.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. de; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas Mediciniais**. Viçosa: Editora UFV, 1998.

MARTINS, J.; RIOTTOT, M.; ABREU, M.; LANÇA, M.; VIEGAS, A.; ALMEIDA, J.; FREIRE, J.; BENTO, O. Dietary raw peas (*Pisum sativum* L.) reduces plasma and hepatic cholesterol in intact and ileo-rectal anastomosed pigs fed cholesterol-rich diets. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 3305-3312, 2004.

MASUR, J.; MARTZ, R. M. W.; URLINI, E. A. Effects of acute and chronic administration of *Cannabis sativa* and (-) Δ^9 -tetrahydrocannabinol on the behavior of rats in openfield arena. **Psychopharmacology**, v.9, p. 388-397, 1971.

MATTEI, R.; DIAS, R. F.; ESPÍNOLA, E. B.; CARLINI, E. A.; BARROS, S. B. M.. Guaraná (*Paullinia cupana*): toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidant activity in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 60, p. 11-6, 1998.

MATTEI, R.; LEITE, J. R.; TUFIK, S. A study of the pharmacological actions of *Dioclea grandiflora* Martius ex Bentham. **São Paulo Medical Journal**, v. 113, n. 1, p. 687-692, 1995.

McCABE, R. T.; WASTERLAIN, C. G. KUCHAREZYK, N.; SOFIA, R. D.; VOGEL, J. R. Evidence for anticonvulsant and neuroprotectant action of felbamate mediated by strychnine-insensitive glycine receptors. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 264, p. 1248-1252, 1993.

MENDES, F. R.; MATTEI, R.; CARLINI, E. L. A. Activity of *Hypericum brasiliense* and *Hypericum cordatum* on the central nervous system in rodents. **Fitoterapia**, v. 73, p. 462-471, 2002.

MERRITT, H. H.; PUTNAM, T. J. Sodium diphenylhydantoinate in the treatment of convulsive disorders. **Journal of American Medical Association**, v. 111, p. 1068-1073, 1938.

MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. **Desenvolvimento de fitoterápicos**. São Paulo: Probe Editorial, 1999, 116p.

MIÑO, J.; ACEVEDO, C.; MOSCATELLI, V.; FERRARO, G.; HNATYSZYN, O. Antinociceptive effect of the aqueous extract of *Balbisia calycina*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 179-182, 2002.

MONFORTE, J.; CARIAS, D.; CIOCCIA, A. M. Valor nutricional de las harinas de *clitoria ternatea* y *brachiaria humidicola* en la alimentación de pollos de engorde. **Interciência**, v. 27, p. 33-38, 2002.

MONTGOMERY, K. C. The relationship between fear induced by novel stimulation and exploration behavior. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 48, p. 254-260, 1955.

MORAIS, L. C. S. L.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; FRANCO, C. I. F.; ALMEIDA, J. R. G. S.; ALMEIDA, R. N. Antiparkinsonian-like effects of *Plumbago scandens* on tremorine-induced tremors methodology. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 79, p. 745-749, 2004.

MORAIS, L. C. S. L. **Possível Influência dos Tratamentos com Extratos Vegetais em Sintomas Extrapiramidais Induzidos Farmacologicamente em Camundongos**. 2005. 120f. Tese de Doutorado (Doutora em Produtos Naturais – Farmacologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2005.

MORTEZA-SEMNANI, K.; SAEEDI, M.; HAMIDIAN, M.; VAFAMEHR, H.; DEHPOUR, A. R. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Glaucium grandiflorum* extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 80, p. 181-186, 2002.

NARAYANAN, M. C.; RAO, P. R.; SHANMUGAM, N. N.; GOPALAKRISHNAN S. M.; DEVI, K. **Natural Products Research**, v. 21, n. 10, p. 903-909, 2007.

NARDI, G. M.; DALBÓ, S.; MONACHE, F. D.; PIZZOLATTI, M. G.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M. Antinociceptive effect of *Croton celtidifolius* Baill (Euphorbiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, p. 73-78, 2006.

NARVAEZ-MASTACHE, J. M.; SOTO, C.; DELGADO, G. Antioxidant evaluation of *Eysenhardtia* species (Fabaceae): relay synthesis of 3-O-Acetyl-11 α , 12 α -epoxy-oleanan-28,13 β -olide isolated from *E. platycarpa* and its protective effect in experimental diabetes. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 8, p. 1503-1510, 2007.

NEVES, S. A.; FREITAS, A. L. P.; SOUSA, B. W.; ROCHA, M. L. A.; CORREIA, M. V. O.; SAMPAIO, D. A.; VIANA, G. S. B. Antinociceptive properties in mice of lectin isolated from the marine alga *Amansia multifida* Lamouroux. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, p. 127-124, 2007.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 1022-1037, 2003.

NOGUEIRA, E.; ROSA, G. J. M.; HARAGUCHI, M.; VASSILIEFF, V. S. Anxiolytic effect of *Rubus brasiliensis* in rats and mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, p. 111-117, 1998.

OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. São Paulo: Atheneu, 1996. 515p.

OLIVEIRA, F. A.; ALMEIDA, R. N.; SOUSA, M. F. V.; BARBOSA-FILHO, J. M.; DINIZ S. A.; MEDEIROS, I. A.; Anticonvulsant properties of N-salicyloyltryptamine in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 68, p. 199-202, 2001.

PAGE, C. P.; CURTIS, M. J.; SUTTER, M. C.; WALKER, M. J. A.; HOFFMAN, B. B. **Farmacologia**. 1^a Ed. Rio de Janeiro: Manole, 1999. 606p.

PAKER, A. G.; PERAZA, G. G.; SENA, J.; SILVA, E. S.; SOARES, M. C. F.; VAZ, M. R. C.; FURLONG, E. B.; MUCCILLO-BAISCH, A. L. Antinociceptive Effects of the Aqueous Extract of *Brugmansia suaveolens* Flowers in Mice. **Biological Research for Nursing**, v. 8, p. 234-239, 2007.

POLATIN, P. B.; DERSH, J. D. Psychotropic medication in chronic spinal disorders. **The Spine Journal**, v. 4, p. 436-450, 2004.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behavior: a review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, p. 18-27, 2003.

PULTRINI, A. M.; GALINDO, L. A.; COSTA, M. Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice. **Life Sciences**, v. 78, p. 1720-1721, 2006.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A. C. G. M.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V.; BARBOSA-FILHO, J. M. Avaliação da atividade anticonvulsivante de plantas do Nordeste Brasileiro. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 21, p. 179-184, 2002.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; SILVA, D. A.; SIQUEIRA, J. S.; SOUZA, M. F. V.; ALMEIDA, R. N.; SILVA-JÚNIOR, R. G. C. Anticonvulsant properties of the total alkaloid fraction of *Rauvolfia ligustrina* Roem. et Schult. in male mice. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 2, p. 29-34, 2007.

RAJENDRA PRASAD, N.; ANANDI, C.; BALASUBRAMANIAN, S.; PUGALENDI, K. V. Antidermatophytic activity of extracts from *Psoralea corylifolia* (Fabaceae) correlated with the presence of a flavonoid compound. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 21-24, 2004.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 5ª Edição, 2004.

RASKIN, I.; RIBNICKY, D. M.; KOMARNYTSKY, S.; ILIC, N.; POULEV, A.; BORISJUK, N.; BRINKER, A.; MORENO, D. A.; RIPOLL, C.; YAKOBY, N.; O'NEAL, J. M.; CORNWELL, T.; PASTOR, I.; FRIDLENDER, B. Plants and human health in the twenty-first century. **Trends in biotechnology**, v. 20, n. 12, p. 522-531, 2002.

REN, Y.; HALAWEISH, F. **Antibacterial and Antioxidant Phenolic Compounds from Lead Plant, a Native American Herb.** Abstracts, 42nd Midwest Regional Meeting of the American Chemical Society, Kansas City, MO, United States, November 7-10 (2007), GENERAL-235. Publisher: American Chemical Society, Washington, D. C CODEN: 69JZDO Conference; Meeting Abstract .

RHODES, M. E.; FRYE, C. A. Androgens in the hippocampus can alter, and be altered by, ictial activity. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 78, p. 483-493, 2004.

RIBEIRO, R. A.; VALE, M. L.; THOMAZZI, S. M.; PASCHOALATO, A. B. P.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 387, p. 111-118, 2000.

ROGAWSKI, M. A.; PORTER, R. J. Antiepileptic drugs and pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising developmental stage compounds. **Pharmacological Reviews**, v. 42, p. 223-286, 1990.

RUJJANAWATE, C.; KANJANAPOTHI, D.; PANTHONG, A. Pharmacological effect and toxicity of alkaloids from *Gelsemium elegans* Benth. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, p. 91-95, 2003.

RYU, S. Y.; CHOI, S. U.; KIM, S. K.; NO, Z.; LEE, C. O.; AHN, J. W.; KIM, S. H. *In vitro* antitumor activity of flavonoids from *Sophora flavescens*. **Phytotherapy Research**, v. 11, n. 1, p. 51-53, 1997.

SANTOS, A. R. S.; NIERO, R.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.; PIZZOLATTI, M. G.; DELLE MONACHE, F.; CALIXTO, J. B. Antinociceptive properties of steroids isolated from *Phyllanthus corcovadensis*. **Planta Medica**, v. 61, p. 329-331, 1995.

- SANTOS, F. A. ; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Studies on the neuropharmacological effects of *Psidium guyanensis* and *Psidium pholianum* essential oils. **Phytotherapy Research**, v.10, p. 655-658, 1996.
- SANTOS, A. R. S.; VEDANA, E. M. A.; FREITAS, G. A. G. Antinociceptive effect of meloxicam, in neurogenic and inflammatory nociceptive models in mice. **Inflammation Research**, v. 47, p. 302-307, 1998.
- SAWYNOK, J.; ESSER, M. J.; REID, A. R. Antidepressants as analgesics: an overview of central and peripheral mechanisms of action. **Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN** , v. 26, n. 1, p. 21–29, 2001.
- SAYYAH, M.; NADJAFNIA, L.; KAMALINEJAD, M. Anticonvulsant activity of *Artemisia dracunculus* L. essential oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 283-287, 2004.
- SAYYAH, M.; MOAIED, S.; KAMALINEJAD, M. Anticonvulsant activity of *Heracleum persicum* seed. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 209-211, 2005.
- SCAVONE, C.; GORENSTEIN, C. Antidepressivos e lítio. In: VALLE, L. B. S.; DeLUCIA, R.; OLIVEIRA-FILHO, R. M. **Farmacologia integrada**. Rio de Janeiro: Editora Ateneu; 1991. v. 2, p.77-86.
- SCHATZBERG, A. F.; COLE, J. O.; DEBATTISTA C. **Manual of clinical Psychopharmacology**. 4ª ed. Washington, DC: American Psychiatric Publishing, 2003.
- SCHOFFERMAN J. The use of medications for low back pain. In: Cole, A. J.; Herring, S. A., editors. **The low back pain handbook**. 2ª ed. Philadelphia, PA: Hanley and Belfus, 2003.
- SEN, T.; CHAUDHURI, K. N. Studies on the neuropharmacological aspects of *Pluchea indica* root extract. **Phytotherapy Research**, v. 6, p. 175-179, 1992.

SHAW, D.; ANNETT, J. M.; DOHERTY, B.; LESLIE, J. C. Anxiolytic effects of lavender oil inhalation on open-field behaviour in rats. **Phytomedicine**, v. 14, p. 613-620, 2007.

SHIBATA, M.; OHKUBO, T.; TAKAHASHI, H.; INOKI, R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. **Pain**, v. 38, p. 347-352, 1989.

SHINDE, U. A.; PHADKE, A. S.; NAIR, A. M.; MUNGANTIWAR, A. A. DIKSHIT, V. J.; SARAF, M. N. Studies on the anti-inflammatory and analgesic activity of *Cedrus deodara* (Roxb.) Loud. Wood oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 65, p. 21-27, 1999.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 4ª Ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRS; 2002. 833p.

SINGH, N.; MISHRA, P. K.; KAPIL, A.; ARYA, K. R.; MAURYA, R.; DUBE, A. Efficacy of *Desmodium gangeticum* extract and its fractions against experimental visceral leishmaniasis. **Journal of Ethnopharmacology**, v.98, p. 83-88, 2005.

SILVA, F. T.; LEITE, J. R. Physiological modifications and increase in state anxiety in volunteers submitted to the Stroop Color-Word Interference Test: A preliminary study. **Physiology & Behavior**, v. 70, p. 113-118, 2000.

SMITH, M.; WILCOX, K. S.; WHITE, H. S. Discovery of Antiepileptic Drugs. **Neuro Therapeutics**, v. 4, p. 12-17, 2007.

SNYDER, S. H. **Drugs and the Brain**. New York: W.H. Freeman, 1996.

SOUZA, M. M.; MADEIRA, A.; BERTI, C.; KROGH, R.; YUNES, R. A.; CECHINELFILHO, V. Antinociceptive properties of the methanolic extract obtained from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, p. 85-90, 2000.

SUBRAMANIAM, S.; RHO, J. M.; PENIX, L. DONEVAN, S. D.; FIELDING, R. P.; ROGAWSKI, M. A. Felbamate block of the N-methyl-D-aspartate receptor. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 273, p. 878-886, 1995.

SUKMA, M.; CHAICHANTIPYUTH, C.; MURAKAMI, Y.; TOHDA, M.; MATSUMOTO, K.; WATANABE, H. CNS inhibitory effects of barakol, a constituent of *Cassia siamia* Lamk. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, p. 87-94, 2002.

TAKEDA, H.; TSUJI, M.; MATSUMIYA, T. Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 350, p. 21-29, 1998.

TEIXEIRA, E. H.; NAPIMOGA, M. H.; CARNEIRO, V. A.; DE OLIVEIRA, T. M.; CUNHA, R. M. S.; HAVT, A.; MARTINS, J. L.; PINTO, V. P. T.; GONÇALVES, R. B.; CAVADA, B. S. *In vitro* inhibition of Streptococci binding to enamel acquired pellicle by plant lectins. **Journal of Applied Microbiology**, v. 101, p. 111-116, 2006.

THAVENDIRANATHAN, P.; CHOW, C.; CUNNANE, S.; BURNHAM, W. M. The effect of the 'classic' ketogenic diet on animal seizure models. **Brain Research**, v. 959, p. 206-213, 2003.

TJOLSEN, A.; BERGE, O. G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J. H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, p. 5-17, 1992.

TORTORIELLO, J. ORTEGA, A. Sedative effect of galphimine B, a norsesco-triterpenoid from *Galphimia glauca*. **Planta Medica**, v. 59, p. 398-400, 1993.

TRIGUEIRO, F.; CORTES, S. F.; ALMEIDA, R. N.; LEMOS, V. S. Endothelium-independent vasorelaxant effect of dioclein, a new flavonoid isolated from *Dioclea grandiflora*, in the rat aorta. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 52, n. 11, p. 1431-1434, 2000.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 27, n.1, p. 1-7, 2006.

VARELA, E. S.; LIMA, J. P. M. S.; GALDINO, A. S.; PINTO, L. S.; BEZERRA, W. M.; NUNES, E. P.; ALVES, M. A.O.; GRANGEIRO, T. B. Relationships in subtribe Diocleinae (Leguminosae; Papilionoideae) inferred from internal transcribed spacer sequences from nuclear ribosomal DNA. **Phytochemistry**, v. 65, p. 59-69, 2004.

VASCONCELOS, S. M. M; LIMA, N. M.; SALES, G. T. M.; CUNHA, G. M. A.; AGUIAR, L. M. V.; SILVEIRA, E. R.; RODRIGUES, A. C. P.; MACEDO, D. S.; FONTELES, M. M. F.; SOUSA, F. C. F; VIANA, G. S. B. Anticonvulsant activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 271-274, 2007.

VASCONCELOS, S. M. M; OLIVEIRA, G. R.; CARVALHO, M. M.; RODRIGUES, A. C. P.; SILVEIRA, E. R.; FONTELES, M. M. F.; SOUSA, F. C. F; VIANA, G. S. B. Antinociceptive Activities of Hydroalcoholic Extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in Mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 7, p. 946-949, 2003.

VAZ, Z. R.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Antinociceptive action of 2-(4-bromobenzoyl)-3-methyl-4,6-dimethoxy benzofuran, a novel xanthoxyline derivative on chemical and thermal models of nociceptive in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 278, p. 304-312, 1996.

VELISEK, L.; VERESOVÁ, S.; PÔBISOVÁ, H.; MARES, P. Excitatory amino acid antagonist and pentylenetetrazol-induced seizures during ontogenesis II: the effects of MK-801. **Psychopharmacology**, v. 104, p. 510-4, 1991.

VERPOORTE, R.; KIM, H. K.; CHOI, Y. H. **Medicinal and Aromatic Plants**. Netherlands: Ed. R.J. Bogers, L.E. Craker and D.Lange, p. 261-273, 2006.

VONGTAU, H. O.; ABBAH, J.; MOSUGU, O; CHINDO, B. A; NGAZAL, I. E.; SALAWU, A. O.; KWANASHIE, H. O.; GAMANIEL, K. S. Antinociceptive profile of the methanolic extract of *Neorautanenia mitis* root in rats and mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, p. 317-324, 2004.

VONGTAU, H. O.; AMOS, S.; BINDA, L.; KAPU, S. D.; GAMANIEL, K. S.; KUNLE, O. F.; WAMBEBE, C. Pharmacological effects of the aqueous extract of *Neorautanenia mitis* in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 207-214, 2000.

WHO. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. **World Health Organization**, Manila, 1993.

WHO. **Atlas: Epilepsy Care in the World**. World Health Organization, Geneva, 2005.

ANEXO

ANEXO 1 – Protocolo Experimental

TRIAGEM FARMACOLÓGICA COMPORTAMENTAL

NOME PLANTA/ EXTRATO : _____ DOSE: _____

PARTE USADA _____ VEÍCULO: _____ DATA: ___ / ___ / ___

VIA DE ADMINISTRAÇÃO: _____

ESPÉCIE ANIMAL: _____ SEXO: _____

RESPONSÁVEL TÉCN.: _____

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	Quantificação dos efeitos (0) sem efeito, (-) efeito diminuído, (+) efeito aumentado, (++) efeito intenso				
	até 30'	1h	2h	3h	4h
1 – SNC					
a – Estimulante					
Hiperatividade					
Irritabilidade					
Agressividade					
Tremores					
Convulsões					
Piloereção					
Movimento intenso das vibrissas					
Outras _____					
b – Depressora					
Hipnose					
Ptose palpebral					
Sedação					
Anestesia					
Ataxia					
Reflexo do endireitamento					
Catatonía					
Analgesia					
Resposta ao toque diminuído					
Perda do reflexo corneal					
Perda do reflexo auricular					
c – Outros comportamentos					
Ambulação					
Bocejo excessivo					
Limpeza					

Escalar					
Vocalizar					
Sacudir a cabeça					
Contorções abdominais					
Abdução das patas do trem posterior					
Pedalar					
Estereotipia					
2 - SN AUTÔNOMO					
Diarréia					
Constipação					
Defecação					
Respiração forçada					
Lacrimejamento					
Micção					
Salivação					
Cianose					
Tono muscular					
Força para agarrar					
3 – MORTE					

Observações: _____

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)