



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS

ESTUDO DA AÇÃO PSICOFARMACOLÓGICA DE
***Herissantia crispa* (L.) Brizicky (Malvaceae)**

CHARLANE KELLY SOUTO PEREIRA

JOÃO PESSOA
2009

CHARLANE KELLY SOUTO PEREIRA

ESTUDO DA AÇÃO PSICOFARMACOLÓGICA DE
***Herissantia crispa* (L.) Brizicky (Malvaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de Concentração: Farmacologia

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Temilce Simões de Assis

JOÃO PESSOA

2009

P436e Pereira, Charlane Kelly Souto.
Estudo da ação psicofarmacológica de *Herissantia crispera*
(L.) Brizicky (Malvaceae) / Charlane Kelly Souto Pereira.-
João Pessoa, 2009.
125f. : il.
Orientadora: Temilce Simões de Assis
Dissertação (Mestrado) – UFPB/CT
1. Produtos Naturais. 2. *Herissantia crispera* (malvaísc). 3.
Psicofarmacologia. 4. Plantas Medicinais. 5. Atividade
antinoceptiva.

UFPB/BC

CDU: 547.9(043)

CHARLANE KELLY SOUTO PEREIRA

ESTUDO DA AÇÃO PSICOFARMACOLÓGICA DE
***Herissantia crispa* (L.) Brizicky (Malvaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de Concentração: Farmacologia

Aprovada em: 11 de novembro de 2009.

Banca examinadora

Prof^a. Dr^a. Temilce Simões de Assis (Orientadora)

Prof. Dr. Antônio Pedro de Araújo Filho (Examinador externo)

Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia de Silveira e Sá (Examinadora interna)

*Aos meus Pais, Antonio e Sonia,
por todo amor e carinho que me
dedicam, e pelo apoio e incentivo em
todas as minhas conquistas.
Amo vocês!*

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, que nunca me desampara, que me dá forças nas horas de desânimos, que me guia pelo melhor caminho, e que me deu capacidade de concretizar este trabalho. Obrigada pela presença constante em minha vida Senhor!

Aos meus pais, **Antonio e Sonia**, por todo amor e por tudo que me ensinaram em toda minha vida. Obrigada por acreditarem em mim, pelas palavras e gestos de coragem e vitória, e por tudo que sou hoje;

Ao meu irmão, **Weverton**, por ficar feliz por mim e torcer para que eu alcance meus objetivos;

À toda a **minha família**, ao meu avô João, tios e primos, pelo carinho e por sempre me colocarem em suas orações. Em memória a meus avós (José Paulo, Maria e Lurdes) e meu querido tio Fernando, sei que todos ficariam muito felizes e orgulhosos com minhas conquistas;

À minha orientadora, **Prof^a. Temilce Simões de Assis**, por ter aceitado me orientar, pela confiança, paciência e por todo o conhecimento transmitido;

Aos meus professores da Pós-Graduação, especialmente os professores **Reinaldo Nóbrega, Bagnólia Araújo, Marcia Piuvezam, Demetrius Araújo, Liana Clébia e Luiz Fernando Marques**, pelo conhecimento transferido, por auxiliar-me na busca da realização de meus ideais profissionais;

Ao **Prof. Reinaldo Nóbrega de Almeida** e sua equipe, pela acolhida no laboratório de psicofarmacologia e pela amizade;

À **Prof^a. Maria de Fátima Vanderlei Souza e Prof. Marcelo Sobral da Silva** e suas respectivas equipes, e em especial ao **Prof. Josean Fechine e a Meri Emili** pela receptividade e amizade que me dedicaram;

À banca examinadora, **Prof. Antônio Pedro de Araújo Filho e Prof^a. Rita de Cássia de Silveira e Sá**, pela disponibilidade com que aceitaram realizar esse trabalho;

À **turma de mestrado** pelas conquistas alcançadas e pelos obstáculos superados; em especial a **Fábio, Rubinho e Dayse**, pelo companheirismo e amizade;

Aos amigos de laboratório **Dri, Lílian, Rayssa, Carlos, Lucas, Rubinho, Camila, Leandra, Paula, Fernando e Guilherme**, pelo companheirismo, amizade e ajuda que me foi prestada na realização deste trabalho;

As amigas do LTF, **Dani, Ana Cláudia, Gabi e Igara**, pela amizade construída;

Aos anjos amigos, **Dri e Fábio**, que tiveram por mim uma amizade incrível, me apoiaram e contribuíram demais para que eu pudesse concluir esse trabalho;

À prima e amigos **Mari, Chris, Dani, Nath e Amarelo** por estarem comigo sempre, pelo apoio, consolo e carinho nas horas que precisei; e a **Raul** pelas palavras de ânimo, força e incentivo;

Aos amigos **Baianinho, Guga, Steno, Laurita, Neném, Kika, Valéria, Irana, Kaká, Vivi, Márcia e Ci**, que estando longe ou perto, sempre torceram pela minha vitória;

Ao amigo e funcionário **José Crispim Duarte** cuja ajuda e disponibilidade foram imprescindíveis para a realização deste trabalho;

Aos funcionários e técnicos do LTF, especialmente **Sócrates Golzio e Tânia Maria**, pela ajuda na realização deste trabalho;

À CAPES pelo apoio financeiro;

À todos que contribuíram de alguma forma para que este trabalho pudesse ser realizado.

*“Espera no Senhor, anima-te, e Ele fortalecerá o
teu coração; espera pois no Senhor”
Salmo 27:14.*

RESUMO

A espécie *Herissantia crispera* (L.) Brizicky, popularmente conhecida como malvaíscio, é uma planta pertencente à família Malvaceae. Não há muitos relatos sobre *H. crispera* na literatura, no entanto, esteróides, flavonóides e glicosídeos flavonoídicos com atividades comprovadas foram isolados desta planta. Outras espécies da família Malvaceae são usadas na medicina tradicional e estudos comprovaram atividades anti-inflamatórias, antinociceptivas, diuréticas, entre outras. O objetivo do presente trabalho foi avaliar as possíveis ações psicofarmacológicas do extrato etanólico de *Herissantia crispera* (EEHc), pela investigação de seus efeitos no sistema nervoso central (SNC), em camundongos. Inicialmente, foi realizada a triagem farmacológica comportamental, para verificar o possível efeito do EEHc no sistema nervoso. Algumas alterações comportamentais semelhantes às de drogas depressoras do SNC foram observadas nos camundongos tratados, tais como, redução da ambulação e pequeno grau de ptose. Nas 72 horas seguintes não houve morte dos animais, nem presença de sinais tóxicos na maior dose possível (2000 mg/kg i.p), sendo estabelecidas as doses de 500 e 800 mg/kg para os testes subsequentes. Nenhuma das doses testadas do EEHc diminuíram o tempo de permanência dos animais na barra giratória no teste do rota-rod. No teste do campo aberto, as duas doses testadas do EEHc diminuíram significativamente a ambulação, o comportamento de levantar e a defecação, sugerindo perfil semelhante ao de drogas sedativo-hipnóticas. O comportamento de autolimpeza não foi alterado por nenhuma dose. O tratamento dos animais com o EEHc nas doses testadas não alteraram seu comportamento no teste do labirinto em cruz elevado e também não protegeram os animais contra as convulsões induzidas pelo eletrochoque auricular, descartando-se os efeitos ansiolítico e anticonvulsivante, respectivamente. As doses de 500 e 800 mg/kg do EEHc induziram significativa potencialização do tempo do sono induzido pelo tiopental, no entanto, não alteraram a latência de indução do sono, característica semelhante à de drogas sedativa-hipnóticas. Na avaliação da atividade antinociceptiva, o EEHc reduziu significativamente o número de contorções abdominais, evidenciando atividade antinociceptiva. Tal efeito não foi dose dependente, pois foi mais pronunciado na dose de 500mg/kg do que na dose de 800mg/kg. No teste da placa quente o EEHc aumentou o tempo de latência ao estímulo térmico apenas na dose de 500 mg/kg, 60 minutos após o tratamento. No teste da formalina, o EEHc na dose de 500 mg/kg só foi capaz de reduzir o tempo de lambida na primeira fase do teste, mas a dose de 800 mg/kg reduziu o tempo de lambida da pata na primeira e segunda fase do teste, confirmando assim o efeito antinociceptivo de ação central. Para detalhar essa atividade antinociceptiva, realizou-se o teste da formalina submetendo os animais a um tratamento prévio com a naloxona, um antagonista opióide, no entanto, o efeito antinociceptivo não foi revertido, excluindo assim a participação do sistema opióide no mecanismo desta atividade. Portanto, baseado nos resultados obtidos no presente estudo, o EEHc apresentou características de drogas com perfil sedativo-hipnótico e atividade antinociceptiva central, sem participação do sistema opióide.

Palavras-chave: *Herissantia crispera*, psicofarmacologia, atividade antinociceptiva.

ABSTRACT

Herissantia crispera (L.) Brizicky popularly known as malvaíscico is a plant which belongs to the Malvaceae family. There aren't many reports about *H. crispera*, however, steroids, flavonoids and glycosidic flavonoids with pharmacological activity have been isolated from this species. Other species of Malvaceae have been used in traditional medicine and many studies have shown activities such as anti-inflammatory, antinociceptive, diuretic and others. The aim of this work was to evaluate a possible psychopharmacological activity of *H. crispera* ethanolic crude extract (EEHc) performing a central nervous system (CNS) investigation in mice. Initially, behavioral pharmacological screening was performed to assess the possible effect of EEHc on the nervous system. Some behavioral changes were observed similar to that of CNS depressant drugs in treated mice. No death was observed 72 hours after treatment with EEHc, nor toxic signs on the highest dose (2000 mg/Kg, i.p.). Therefore we established the doses 500 or 800 mg/kg to perform the pharmacological tests. None of the two doses reduced the time of permanence of mice on a rota-rod revolving bar. On the open-field test, both doses of EEHc significantly reduced ambulation, rearing and defecation, suggesting a profile that resembles hypnotic-sedative drugs. The EEHc treatment did not affect grooming. There were no differences between the control group and the EEHc treated groups when mice were tested for differences in anxiety-related behavior on the elevated plus maze or electroshock-induced tonic convulsions triggered by auricular shock, suggesting that EEHc does not have anxiolytic or anticonvulsant effects. Both doses of EEHc significantly increased the duration of sleeping time induced by sodium thiopental but failed to increase the latency of thiopental-induced hypnosis. Regarding the antinociceptive tests, EEHc significantly reduced acetic acid-induced abdominal writhes in a non dose-dependent manner. EEHc at 500 mg/kg also significantly reduced the hot-plate latency time only 60 minutes after treatment. In the formalin test, EEHc at 500 mg/kg was only able to reduce licking paw time in the first phase of the test. EEHc at the dose of 800 mg/kg reduced licking paw time the first and second phases. These results support the evidence of a central antinociceptive action. In order to confirm the central antinociceptive activity of EEHc, mice were treated with naloxone, an opioid antagonist, and then submitted to formalin test. Since the effect of the EEHc was not reverted by naloxone is excluded the participation of the opioid system in the mechanism of this activity. Therefore, an results suggest that EEHc presented evidences a sedative-hypnotic drug profile with central non-opioid antinociceptive activity.

Key words: *Herissantia crispera*, psychopharmacology, antinociceptive activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. . Partes aéreas de <i>Herissantia crisper</i> L. (Brizicky).....	28
Figura 2. Flavonóides isolados da <i>H. crisper</i>	29
Figura 3. Organização do sistema nervoso.....	32
Figura 4. Organização anatômica do SNC..	33
Figura 5. Visão geral do circuito nociceptivo.	43
Figura 6. Camundongo <i>Swiss</i>	51
Figura 7. Aparelho de rota-rod.	54
Figura 8. Aparelho de campo aberto.	54
Figura 9. Aparelho de labirinto em cruz elevado.	55
Figura 10. Aparelho do eletrochoque auricular.	56
Figura 11. Aparelho de placa quente.	56
Figura 12. Caixa de observação para o teste da formalina.	57
Figura 13. Resumo esquemático do estudo psicofarmacológico do EEHc em camundongos.	58

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.), sobre a coordenação motora de camundongos no teste do rota-rod. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=6). (Teste Mann-Whitney)..... 70
- Gráfico 2.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) sobre a ambulação no teste do campo aberto em camundongos. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 71
- Gráfico 3.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) sobre a variação da limpeza no teste do campo aberto em camundongos. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). (Teste “t” de Student para amostras independentes). 72
- Gráfico 4.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) sobre o comportamento de levantar no teste do campo aberto em camundongos. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 72
- Gráfico 5.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) sobre a defecação no teste do campo aberto em camundongos. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). *P<0,05, **P<0,01 (Teste Mann-Whitney)..... 73
- Gráfico 6.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.), em camundongos, no teste do labirinto em cruz elevado (braços abertos). (A) Número de entradas e (B) Tempo de permanência (s) Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=6). *P<0,05 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 75
- Gráfico 7.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.), em camundongos, no teste do labirinto em cruz elevado (braços fechados). (A) Número de entradas e (B) Tempo de permanência (s) Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=6). (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 76
- Gráfico 8.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.), na duração das convulsões induzidas pelo eletrochoque auricular máximo em camundongos. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=6). ***P< 0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 78
- Gráfico 9.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina dose de 6 mg/kg, em camundongos, no número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). **P<0,01, ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 80
- Gráfico 10.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, no teste da placa quente, 30 minutos após o tratamento dos animais. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). *P<0,05, ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 81

- Gráfico 11.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, no teste da placa quente, 60 minutos após o tratamento dos animais. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). *P<0,05, ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 81
- Gráfico 12.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, no teste da placa quente, 120 minutos após o tratamento dos animais. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). *P<0,05, ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 82
- Gráfico 13.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, na primeira fase do teste da formalina. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 83
- Gráfico 14.** Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, na segunda fase do teste da formalina. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 833
- Gráfico 15.** Efeito de EEHc na dose de 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, na primeira fase do teste da formalina após pré-tratamento com naloxona na dose de 6 mg/kg. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 84
- Gráfico 16.** Efeito de EEHc na dose de 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, na segunda fase do teste da formalina após pré-tratamento com naloxona na dose de 6 mg/kg. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes)..... 85

LISTA DE TABELAS E QUADROS

- Tabela 1.** Percentual de ataques convulsivos tônicos e mortalidade observados nos camundongos tratados com veículo, com o EEHc e com fenitoína (padrão) durante o teste de convulsões induzidas por eletrochoque auricular. 77
- Tabela 2.** Tabela comparativa exibindo o efeito de EEHc e o diazepam sobre o tempo de latência do sono induzida pelo tiopental e o tempo de duração do sono em minutos. 79
- Quadro 1.** Protocolo utilizado na triagem farmacológica comportamental.. 125

LISTA DE ABREVIATURAS

δ	Delta
κ	Kappa
μ	Um
σ	Sigma
α-adrenérgica	Alfa-adrenérgica
β-endorfina	Beta-endorfina
μL	Microlitro
5-HT₁	Receptor da 5-hidroxitriptamina tipo 1
5-HT_{1A}	Receptor da 5-hidroxitriptamina tipo 1A
AINEs	Anti-inflamatórios não-esteroidais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
°C	Graus Celsius
Ca²⁺	Íons cálcio
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
Cl⁻	Íons cloreto
COX-1	Ciclooxigenase tipo 1
COX-2	Ciclooxigenase tipo 2
D2	Receptores dopaminérgicos tipo 2
DL₅₀	Dose letal 50%
EEHc	Extrato etanólico de <i>Herissantia crispera</i>
e.p.m.	Erro padrão da média
GABA	Ácido gama amino butírico
GABA_A	Receptor do ácido gama amino butírico tipo A
IASP	International Association for the Study of Pain
IL-1β	Interleucina -1 β
IL-8	Interleucina – 8
IL-18	Interleucina – 18
IMAO	Inibidor da enzima monoamino oxidase
i.p.	Intraperitoneal
K⁺	Íons potássio
LTF	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica

mA	Miliampéres
n	Número de animais
NMDA	N-metil-D-aspartato
NPPN	Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais
OMS	Organização Mundial de Saúde
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
r.p.m.	Rotações por minuto
s. c.	Subcutânea
SN	Sistema nervoso
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
SUS	Sistema Único de Saúde
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α

SUMÁRIO

RESUMO	VIII
ABSTRACT	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE GRÁFICOS	XI
LISTA DE TABELAS E QUADROS	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS	XIV
1. INTRODUÇÃO	20
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	26
2.1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE <i>HERISSANTIA CRISPA</i>	26
2.2. CONSIDERAÇÕES SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL	31
2.3. PSICOFARMACOLOGIA	35
2.3.1. PSICONANALÉPTICOS	36
2.3.1.1. Antidepressivos	36
2.3.2. PSICOLÉPTICOS	37
2.3.2.1. Neurolépticos.....	37
2.3.2.2. Antiepilépticos.....	38
2.3.2.3. Ansiolíticos e hipnóticos	38
2.3.2.4. Relaxantes musculares.....	39
2.3.2.5. Analgésicos de ação central.....	39
2.4. DOR E NOCICEPÇÃO.....	40
2.5. TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DA DOR.....	45
3. OBJETIVOS	49
3.1. GERAL	49
3.2. ESPECÍFICOS	49
4. MATERIAIS	51
4.1. ANIMAIS EXPERIMENTAIS	51
4.2. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS	52
4.3. SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS.....	52

4.4. PREPARAÇÃO E ADMINISTRAÇÃO DO EXTRATO.....	53
4.5. APARELHAGEM	53
4.5.1. Aparelho de rota-rod	53
4.5.2. Aparelho de campo aberto (Open field).....	54
4.5.3. Aparelho de labirinto em cruz elevado	55
4.5.4. Aparelho de eletrochoque auricular	55
4.5.5. Aparelho de placa quente	56
4.5.6. Caixa de observação para o teste da formalina	57
5. MÉTODOS.....	58
5.1. AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL E AUTÔNOMO.....	59
5.1.1. Triagem farmacológica comportamental e determinação da dose letal 50% (DL ₅₀).....	59
5.2. AVALIAÇÃO GERAL DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO	60
5.2.1. Teste da barra giratória rota-rod.....	60
5.2.2. Teste do campo aberto.....	61
5.3. AVALIAÇÃO ESPECÍFICA DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL E PERIFÉRICO	62
5.3.1. Estudo da atividade ansiolítica.....	62
5.3.1.1. Teste do labirinto em cruz elevado.....	62
5.3.2. Estudo da atividade anticonvulsivante	63
5.3.2.1. Teste das convulsões induzidas pelo eletrochoque auricular	63
5.3.3. Estudo da atividade sedativa-hipnótica.....	63
5.3.3.1. Teste da potencialização do tempo de sono induzido pelo tiopental.....	63
5.3.4. Estudo da atividade antinociceptiva.....	64
5.3.4.1. Teste das contorções abdominais induzidas por acido acético.....	64
5.3.4.2. Teste da placa quente.....	65
5.3.4.3. Teste da formalina	65
5.4. AVALIAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA OPIÓIDE NO MECANISMO DE AÇÃO.....	66
5.4.1. Teste da formalina após tratamento com antagonista opióide	66
5.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	67
6. RESULTADOS.....	69

6.1. AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL E AUTÔNOMO.....	69
6.1.1. Triagem farmacológica comportamental e determinação da DL ₅₀	69
6.2. AVALIAÇÃO GERAL DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO	70
6.2.1. Teste da barra giratória rota-rod.....	70
6.2.2. Teste do campo aberto.....	71
6.3. AVALIAÇÃO ESPECÍFICA DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL E PERIFÉRICO	74
6.3.1. Estudo da atividade ansiolítica.....	74
6.3.1.1. Teste do labirinto em cruz elevado.....	74
6.3.2. Estudo da atividade anticonvulsivante	77
6.3.2.1. Teste das convulsões induzidas pelo eletrochoque auricular	77
6.3.3. Estudo da atividade sedativa-hipnótica.....	78
6.3.3.1. Teste de potencialização do tempo de sono induzido pelo tiopental.....	78
6.3.4. Estudo da atividade antinociceptiva.....	79
6.3.4.1. Teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	79
6.3.4.2. Teste da placa quente.....	80
6.3.4.3. Teste da formalina	82
6.4. AVALIAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA OPIÓIDE NO MECANISMO DE AÇÃO	84
6.4.1. Teste da formalina após tratamento com antagonista opióide	84
7. DISCUSSÃO	87
8. CONCLUSÕES.....	99
9. PERSPECTIVAS.....	101
REFERÊNCIAS	103
ANEXOS	125

Introdução

1. INTRODUÇÃO

As plantas têm sido utilizadas como medicamentos pela população, proporcionando boas fontes de substâncias farmacologicamente ativas e melhorando o arsenal terapêutico (PARRA et al., 2001). O uso de plantas medicinais na arte de curar é uma forma de tratamento de origem muito antiga, relacionada aos primórdios da medicina e fundamentada no acúmulo de informações por sucessivas gerações (BRASIL, 2006).

Ao longo do tempo têm sido registrados variados procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais. Apesar da grande evolução da medicina alopática a partir da segunda metade do século XX, existem obstáculos básicos na sua utilização pelas populações carentes, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares à obtenção de exames e medicamentos. Estes motivos, associados com a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento (VEIGA-JUNIOR; PINTO, 2005).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) a estimativa atual sugere que muitos países desenvolvidos possuem uma grande proporção da população que recorre à prática tradicional da saúde, especialmente o uso das plantas medicinais. Embora o acesso à medicina moderna esteja disponível nestes países, o uso de plantas medicinais tem mantido sua popularidade por razões históricas e culturais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999). No início da década de 1990, a OMS divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (AKERELE, 1993).

Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas (CECHINEL-FILHO; YUNES, 1998). Atualmente, aproximadamente 48% dos medicamentos empregados na terapêutica advêm, direta ou indiretamente, de produtos naturais, especialmente de plantas medicinais (BALUNAS; KINGHORN, 2005)

Isto se deve, em parte, à grande variedade de espécies (250-500 mil) de plantas existentes na flora mundial, muitas com importantes propriedades terapêuticas (HAMBURGER; HOSTETTMANN, 1991). Esta rica biodiversidade é acompanhada por uma longa aceitação de uso de plantas medicinais e conhecimento tradicional associado (RODRIGUES, 2006). Estima-se que somente cerca de 10% das espécies existentes de plantas têm sido sistematicamente estudadas em termos de compostos bioativos, e que

apenas 1.100 espécies das 365.000 espécies de plantas conhecidas foram estudadas em suas propriedades medicinais (GARCIA, 1995)

O Brasil possui grande potencial para o desenvolvimento da terapêutica a partir de plantas medicinais (BRASIL, 2006). Ele possui a maior biodiversidade do mundo, com cerca de 60.000 espécies de plantas, o que corresponde aproximadamente à 20% de toda a flora mundial, e não menos de 75% de todas as espécies existentes nas grandes florestas (GARCIA, 1995). Aliada a grande biodiversidade brasileira existe também uma rica diversidade étnica e cultural que detém um valioso conhecimento tradicional associado ao uso de plantas medicinais, e possui o potencial necessário para desenvolvimento de pesquisas com resultados em tecnologias e terapêuticas apropriadas (REDESFITO, 2008). No Brasil, estima-se que 25% dos US\$ 8 bilhões de faturamento da indústria farmacêutica nacional sejam originadas de medicamentos derivados de plantas (GARCIA et al., 1996).

A fitoterapia é uma terapêutica caracterizada pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal. O interesse popular e institucional vem crescendo no sentido de fortalecer a fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS). A partir da década de 80, diversos documentos foram elaborados, enfatizando a introdução de plantas medicinais e fitoterápicos na atenção básica no sistema público (BRASIL, 2006).

No intuito de estabelecer as diretrizes para a atuação do governo nessa área, elaborou-se a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), que constitui uma estratégia no que se refere às políticas públicas de saúde, meio ambiente, desenvolvimento econômico e social, apresentando elementos fundamentais de transversalidade na implementação de ações capazes de promover melhorias na qualidade de vida da população brasileira. Nesse sentido, a PNPMF, aprovada por meio do Decreto Nº 5.813, de 22 de junho de 2006, estabelece diretrizes e linhas prioritárias para o desenvolvimento de ações pelos diversos parceiros em torno de objetivos comuns voltados à garantia do acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos em nosso país, ao desenvolvimento de tecnologias e inovações, ao fortalecimento das cadeias e dos arranjos produtivos, ao uso sustentável da biodiversidade brasileira e ao desenvolvimento do Complexo Produtivo da Saúde (REDESFITO, 2008).

As universidades brasileiras são os centros de pesquisas e eventualmente do desenvolvimento de medicamentos de plantas medicinais. Apesar das dificuldades, as universidades e institutos de pesquisa brasileiros têm contribuído fortemente para a

descoberta de novas moléculas que poderão vir a ser aproveitadas para a pesquisa fitofarmacêutica de plantas medicinais (FERREIRA et al, 1998). Existe no país um grande número de grupos de pesquisa que têm contribuído significativamente para o desenvolvimento da química de produtos naturais de plantas, a quimiotaxonomia, a farmacologia de produtos naturais e outras áreas relacionadas (YUNES; PEDROSA; CECHINEL-FILHO, 2001).

No entanto, nosso país não tem uma atuação destacada no mercado mundial de fitoterápicos, ficando inclusive atrás de países menos desenvolvidos tecnologicamente (YUNES; PEDROSA; CECHINEL-FILHO, 2001). Um problema grave na comercialização de fitoterápicos no Brasil ou a possibilidade de exportação é a falta do *status* de medicamento ético que lhe garanta eficácia, segurança e qualidade, padrões estes mensurados em bases científicas para a segurança do usuário (SIANI; GILBERT, 2000)

Carvalho e colaboradores (2008) realizaram um levantamento, com base na lista de substâncias de origem vegetal cadastradas na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), encontrando um total de 512 medicamentos fitoterápicos registrados, sendo 80 fitoterápicos associados e 432 simples, ou seja, obtidos de derivados de apenas uma espécie vegetal. As espécies vegetais com maior número de registros na ANVISA na forma de seus derivados para obtenção de fitoterápicos são: *Ginkgo biloba* (ginkgo), *Aesculus hippocastanum* (castanha da índia), *Cynara scolymus* (alcachofra), *Hypericum perforatum* (hipérico), *Glycine max* (soja), *Valeriana officinalis* (valeriana) e *Panax ginseng* (ginseng).

Entre os diversos exemplos de substâncias importantes oriundas de plantas, podemos mencionar a forskolina, diterpeno isolado da *Coleus barbatus*, que apresenta promissores efeitos contra hipertensão, glaucoma, asma e certos tumores; a artemisinina, lactona sesquiterpênica, obtida da *Artemisia annua*, e empregada no tratamento da malária cerebral provocada por cepas de *Plasmodium falciparum* resistentes a cloroquina (PASSOS et al., 2009); e o taxol, um diterpeno extraído da *Taxus brevifolia* (MARTINS, 2004), que é uma potente droga anticancerígena, efetiva contra o avanço do carcinoma ovariano e do carcinoma de mama, e mostrou atividade promissora contra muitos outros tipos de tumores (ROWINSKY; DONEHOWER, 1995). Outros exemplos de plantas amplamente utilizadas ao longo dos anos para obtenção de fármacos são a morfina, a emetina, a vincristina, a colchicina, a rutina, entre outras (CECHINEL-FILHO, YUNES, 1998).

A natureza, de forma geral, tem produzido a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. Entretanto, é o reino vegetal que tem contribuído de forma mais significativa

para o fornecimento de substâncias úteis ao tratamento de doenças que acometem os seres humanos (PHILLIPSON; ANDERSON, 1989). A avaliação do potencial terapêutico de plantas medicinais e de alguns de seus constituintes, tais como flavonóides, alcalóides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, lignanas, etc, é objeto de incessantes estudos, onde já foram comprovadas as ações farmacológicas através de testes pré-clínicos com animais (HAVSTEEN, 1983; CALIXTO et al., 1990; SAMUELSSON, 1992; CECHINEL-FILHO, 1995). Muitas destas substâncias têm grandes possibilidades de futuramente virem a ser aproveitadas como agentes medicinais (CECHINEL-FILHO, YUNES, 1998).

Inúmeros grupos de pesquisa em todo mundo têm voltado sua atenção para validação do uso de plantas medicinais e o isolamento de seus metabólitos secundários (SILVA et al. 2008). A necessidade de se chegar aos compostos puros responsáveis pelos efeitos biológicos apresentados pelos extratos, leva a uma obrigatória integração entre a química e a farmacologia molecular, cujo elo pode levar à obtenção de substâncias naturais ou sintéticas de grande interesse químico-medicinal. Portanto, é importante ressaltar que o sucesso das investigações na área de princípios ativos naturais depende, principalmente, do grau de interação entre a botânica, a química e a farmacologia. (CECHINEL-FILHO, YUNES, 1998).

É importante mencionar que, numerosas plantas medicinais têm reconhecidas atividades no sistema nervoso central (SNC) e elas têm, no mínimo, um potencial hipotético que afeta condições crônicas tais como ansiedade, depressão, cefaléias ou epilepsia, que não respondem bem aos tratamentos convencionais (PHILLIPSON, 2001; CARLINI, 2003; BLANCO et al., 2007).

Para o tratamento da ansiedade, algumas plantas têm sido usadas como alternativa terapêutica, destacando-se entre elas, a *Passiflora incarnata* L. (maracujá), *Valeriana officinalis* L. (valeriana) e *Piper methysticum* (kava-kava) com propriedades sedativas e ansiolíticas comprovadas (CARLINI, 2003). As plantas medicinais são também muito utilizadas para alívio da dor, como por exemplo, *Papaver somniferum* (papoula), *Aloe vera* (babosa) e *Lippia alba* (erva-cidreira) (ALMEIDA; NAVARRO; BARBOSA-FILHO, 2001). Para o tratamento da epilepsia são indicadas, por exemplo, os chás de *Ptychopetalum olacoides* Benth. (muirapuama), *Uncaria tomentosa* (unha de gato) e *Copaifera officinalis* L. (copaíba) (REVILLA, 2004).

Conforme visto, existe a necessidade cada vez maior de pesquisar as possíveis propriedades farmacológicas das plantas, em busca de novas alternativas terapêuticas, que

apresentem eficácia, ausência de efeitos adversos graves e baixo custo. Nesse sentido, o presente trabalho teve a finalidade de contribuir para a pesquisa científica no que se refere à investigação em modelos animais dos possíveis efeitos psicofarmacológicos do extrato etanólico de *Herissantia crispera* (L.) Brizicky, na perspectiva de colaborar para expansão dos conhecimentos científicos sobre a família Malvaceae.

*Fundamentação
teórica*

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE *Herissantia crispera*

Entre as inúmeras espécies vegetais de interesse medicinal, encontram-se as plantas pertencentes à família Malvaceae, uma vez que, uma grande variedade de compostos naturais foi encontrada em espécies desta família com propriedades farmacológicas comprovadas.

A família Malvaceae é constituída por 243 gêneros e 4225 espécies (STEVENS, 2003). Membros desta família ocorrem em quase todas as partes do mundo, com exceção de regiões muito frias, e são particularmente abundantes nas regiões tropicais, principalmente na América do Sul (HEYWOOD, 1993). Barroso e colaboradores (1991) mencionaram a ocorrência de 35 gêneros e 400 espécies no Brasil.

Em geral, as espécies da família Malvaceae são plantas que se apresentam como ervas, arbustos e árvores, com folhas inteiras ou profundamente lobadas ou partidas; flores grandes e vistosas, hermafroditas e com o desenvolvimento de cálice externo (JOLY, 2002).

Estudos químicos sobre os metabólitos secundários das Malvaceae descreveram a ocorrência de triterpenos (AHMED; KAZMI; MALIK, 1990), flavonóides (SILVA et al., 2005a, 2005b), óleos essenciais (AMES; MACLEOD, 1990), lactonas sesquiterpênicas (SHARMA; AHMAD, 1989) e ácidos graxos (CARMODY; DEJONG; SMITH, 1945; VICKERY, 1980; SCHIMID; PATTERSON, 1988; NAKATANI; FUKUNAGA; HASE, 1986).

Há muitos relatos na literatura relacionados ao uso de várias espécies da família Malvaceae na medicina tradicional. Alguns destes usos incluem a utilização como emolientes, antifebris, antiinflamatório (AHMED et al., 1990), diuréticos, no tratamento de reumatismos, distúrbios gastrointestinais (AHMED et al., 1990; SHULTZ, 1968; YESILADA; GÜRBÜZ, 2002), picadas de cobra (OTERO et al., 2000) e asma (FRANZOTTI et al., 2000). Estudos farmacológicos em modelos animais utilizando extratos de *Sida cordifolia* e *Sida rhomboidea*, espécies pertencentes à família Malvaceae, indicaram atividade antinociceptiva e antiinflamatória comprovando sua utilização popular. (VENKATESH et al., 1999; FRANZOTTI et al., 2000; ALAM et al., 1991; SUTRADHAR

et al., 2006). Segundo estudos realizados por Sezik e colaboradores (1997), a *Malva neglecta*, também pertencente à família Malvaceae, apresenta efeito em dores abdominais.

Herissantia é um gênero da família Malvaceae que apresenta poucos estudos quanto às suas propriedades químicas e farmacológicas. É um gênero neotropical, possui hábito subarbustivo e arbustivo, difuso e escandente, fruto pendular e inflado, com mericarpos reniformes e escariosos (FRYXELL, 1973). É constituído por seis ou mais espécies restritas à América tropical (FRYXELL, 1997). A maioria das espécies ocorre no México, Antilhas e América do Sul. Somente *H. crispa* é de ampla distribuição, ocorrendo desde os Estados Unidos até a Argentina (FRYXELL, 1993).

O gênero *Herissantia* possui diversos tipos de fitoconstituintes, como ácido graxo, triterpenos, esteróides, ácido fenólico, flavonóides na forma de aglicona ou glicosilados (SILVA et al., 2005c). Foram isolados da espécie *H. tiubae* (K. Schum) Brizicky quatro triterpenos (frideline, lupeol, cicloartenol e cicloeucalenol), um esteróide (β -sitosterol) e cinco compostos fenólicos (ácido *p*-metoxibenzoico, 6,7-dimetoxiculmarina e três flavonóides glicosilados - canferol 7-O- α -L-ramnopiranosídeo, 3-O- β -D-(6''-*E-p*-cumaroil) glicosídeo e 4',5-diidroxi-3,6,7,8,3'-pentametoxiflavona) (SILVA et al., 2005a; 2005b; SILVA et al., 2009). Cicloeucalenol e cicloartenol mostraram um efeito relaxante no íleo de cobaia (GOMES et al., 2005). Um flavonóide altamente oxigenado, 4',5-diidroxi-3,6,7,8,3'-pentametoxiflavona, desempenhou um papel na modulação da resistência bacteriana a alguns antibióticos (SILVA et al., 2009). E estudos preliminares realizados com o flavonóide lespedina revelaram uma atividade relaxante sobre a artéria mesentérica superior, o que poderia ser considerado como um resultado importante no campo cardiovascular (SILVA et al., 2005b).

A espécie vegetal *H. crispa* (L.) Brizicky (figura 1), conhecida popularmente como malvaíscio, pertence à família Malvaceae (JOHANN et al., 2007; AGRA et al., 2008) e é uma planta ainda pouco estudada. Quase todos os estudos publicados até agora, foram realizados no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) em uma série de experimentos que determinaram que a espécie possui atividade antidiarréica, antiulcerogênica e antimicrobiana (LIMA et al., 2009).



Figura 1. Partes aéreas de *Herissantia crisper* L. (Brizicky) (Foto: Tavares, 2005).

O estudo fitoquímico de *H. crisper* resultou no isolamento de sete constituintes químicos, sendo três esteróides (β -sitosterol, sitosterol 3-*O*- β -D-glicopiranosídeo e estigmasterol 3-*O*- β -D-glicopiranosídeo) e quatro flavonóides: 3,5,7,4'-tetraidroxiflavonol (canferol); 3,5,7,3',4'-pentaidroxilflavonol (quercetina); canferol 3-*O*-beta-D-glicopiranosídeo (tilirosídeo) e o canferol 3,7-di-*O*-alfa-L-raminopiranosídeo (lespedina) (figura 2) (COSTA, 2006).

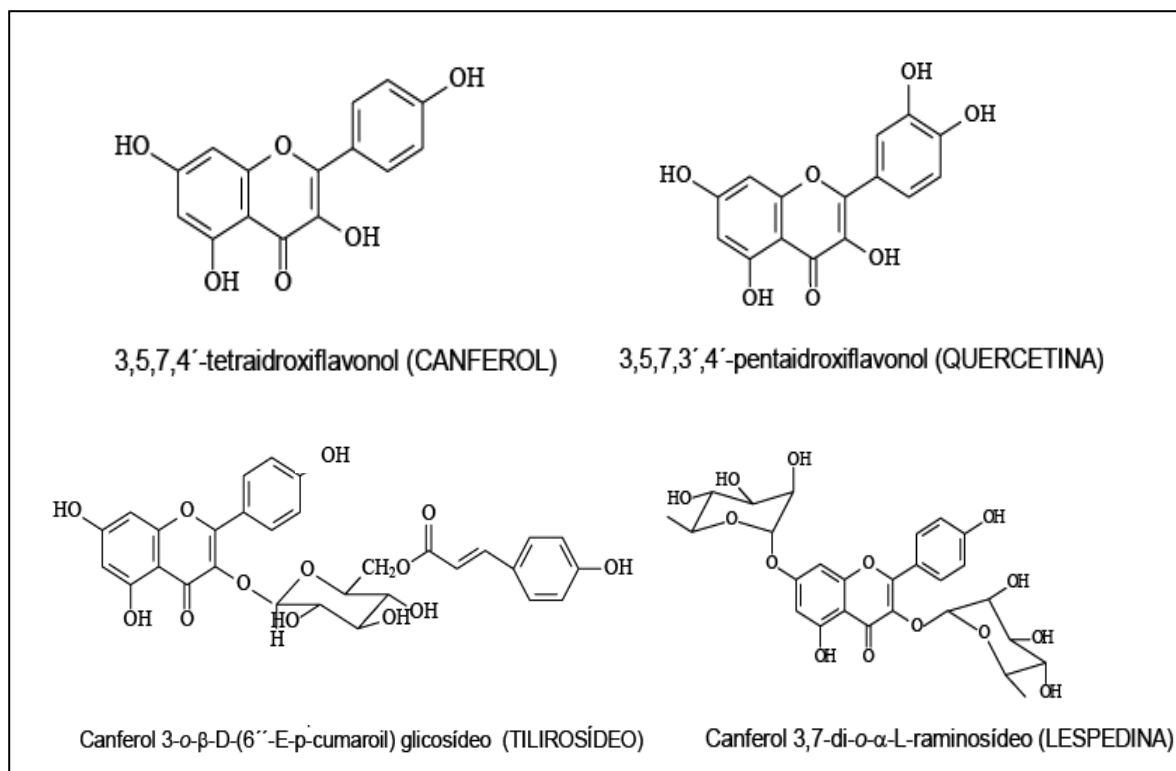


Figura 2. Flavonóides isolados da *H. crisper* (Fonte: COSTA, 2006).

Os flavonóides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural (SIMÕES et al., 1986). Um amplo número de atividades farmacológicas foram atribuídas a este grupo de metabólitos secundários. Dentre várias delas, cabe destacar as suas propriedades diuréticas (WANG, 2000), antiespasmódicas (MUROTA, TERRÃO, 2003), anti-inflamatórias (THEOHRIDES et al., 2001), antibacterianas (PLAPER et al., 2003), antiulcerativas (FRANCESCA; ANGELO, 2000), antivirais (CHIANG et al., 2003), antifibrótica (QI et al., 2001), estrogênicas, antioxidantes (BOADI; IYERE; ADUNHYA, 2003) e antineoplásicas (LOPEZ-LAZARO, 2002).

A quercetina é um flavonóide que produz significativa resposta anti-inflamatória, antinociceptiva, quando testada com ácido acético, formalina e capsaïcina (CARLIXTO et al., 2000; WILLAIN-FILHO, 2005). No estudo realizado por Rylski e colaboradores (1979) o efeito analgésico de vários flavonóides, dentre os quais, a quercetina, figurava como o mais efetivo, quando avaliado no teste da placa quente.

Além destes efeitos, a quercetina também apresentou ação antimicrobiana (SCHLEMPER et al., 1998; SARTORI et al., 2003), antioxidante (HUK et al., 1998; PERES et al., 2000; JONAVIC et al., 1998) antitumoral (HERTOG et al., 1994; LIN et al.,

2002; KANEUCHI et al., 2003), efeito gastroprotetor (KAHRAMAN et al., 2003), entre outros (LIESVELD et al., 2003; LIMA et al., 2001; MILTERSTEINER et al., 2003).

O tilirosídeo apresenta atividade anti-inflamatória significativa, além de atividade antioxidante, atuando através de um mecanismo de varredura de radicais peróxidos, e sugerindo assim uma possível relação entre o efeito antiinflamatório e o antioxidante (SALA et al., 2003).

Estudos sobre o tilirosídeo relataram atividade citotóxica em linhagens de células leucêmicas (DIMAS et al., 2000), atividade hepatoprotetora (MATSUDA et al., 2002) e ação como anti-hipertensiva, por produzir efeito vasorelaxante (SILVA et al., 2005c). Também foi observado efeito relaxante em músculo liso de íleo de cobaia provocado pelo tilirosídeo, sendo esta ação mediada, possivelmente, pelo bloqueio do influxo de cálcio (COSTA et al., 2007).

A lespedina (canferol 3,7-O-(a)-L-raminopiranosídeo) também foi efetivo como agente hipoglicemiante e com ação no tecido alvo da insulina, mostrando uma ação insulino-mimética na captação de glicose sem, no entanto, alterar a síntese protéica, em ratos diabéticos (JORGE, 2003).

Segundo Lima (2008), a espécie *H. crispa* apresentou ação antiulcerogênica, provavelmente relacionada ao mecanismo de citoproteção, com alguns indícios de mecanismos anti-secretórios e antioxidantes, havendo a necessidade de estudos complementares para confirmação desses mecanismos.

Existe ainda a indicação etnomedicinal do uso de raízes e flores de *H. crispa* no tratamento de infecções do trato respiratório e tosse (BOVINI; OKANO-CARVALHO; VIEIRA, 2001; AGRA et al., 2008).

Há poucas referências na literatura sobre a espécie *H. crispa* e, apesar de apresentar pouca indicação de uso popular, ela foi selecionada para o estudo de acordo com o aspecto quimiotaxonômico, por ser rica em flavonóides e por estes constituintes químicos apresentarem atividades biológicas comprovadas.

2.2. CONSIDERAÇÕES SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL

O sistema nervoso é responsável pela maioria das funções que caracterizam os organismos superiores. Em seres humanos, esse sistema representa a fonte de consciência, sensação, movimento voluntário, pensamento, memória e aprendizado, predição, emoção e outras formas de comportamento cognitivo. Em um nível mais simples, o sistema nervoso serve de mediador da atividade reflexa e controla as respostas autônomas e endócrinas. Os constituintes do sistema nervoso estão distribuídos por todo o corpo e influenciam todos os outros sistemas (WILLIS-JUNIOR, 2006a).

O sistema nervoso pode ser dividido, em nível estrutural e funcional, em componentes periférico e central. O sistema nervoso periférico (SNP) inclui todos os nervos que seguem o seu percurso entre o SNC e os locais somáticos e viscerais (GALANTER; LOWENSTEIN, 2009). Tais neurônios são chamados de neurônios aferentes ou sensitivos (enviam informação das células efectoras para o SNC) e neurônios eferentes (transmitem respostas do SNC para as células efectoras). Os neurônios eferentes do SNP são subdivididos em sistema motor somático (controla músculos esqueléticos), e sistema nervoso autônomo (SNA) (controla os músculos lisos e cardíaco, glândulas exócrinas e algumas endócrinas, e alguns tipos de tecido adiposo). O sistema autônomo ainda é dividido em sistemas simpático e parassimpático, que podem ser diferenciados pela sua organização anatômica e pelas substâncias químicas secretadas. (SILVERTHORN, 2003).

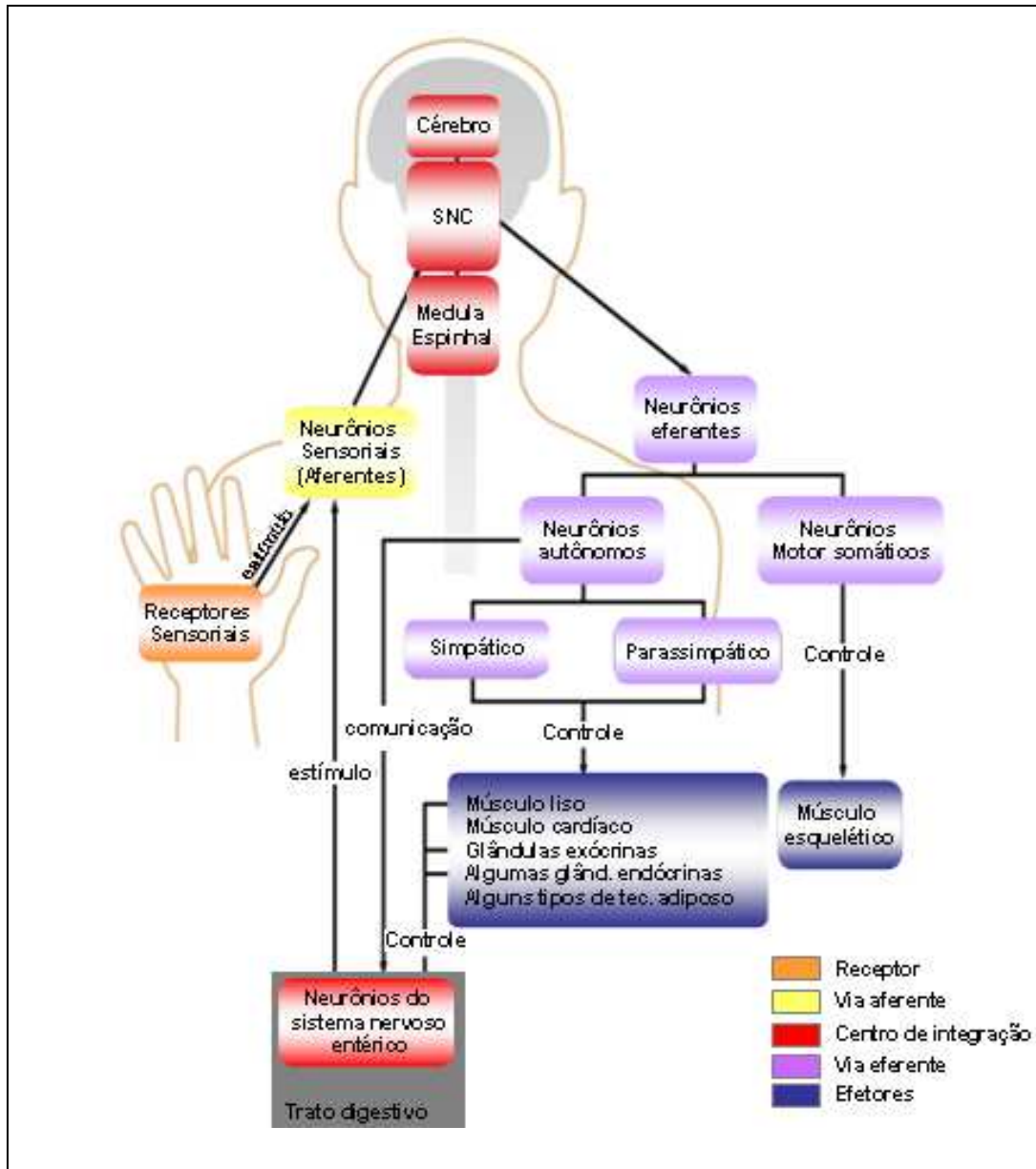


Figura 3. Organização do sistema nervoso (Fonte: Adaptado de SILVERTHORN, 2003).

O SNC é responsável por funções importantes, como percepção – incluindo processamento sensitivo, auditivo e visual -, estado de vigília, linguagem e consciência. O SNC inclui o cérebro, o diencefalo, o cerebelo, o tronco encefálico e a medula espinhal (figura 3). O SNC transmite e processa sinais recebidos do SNP, cujo processamento resulta em respostas e estas são retransmitidas a periferia (GALANTER; LOWENSTEIN, 2009).

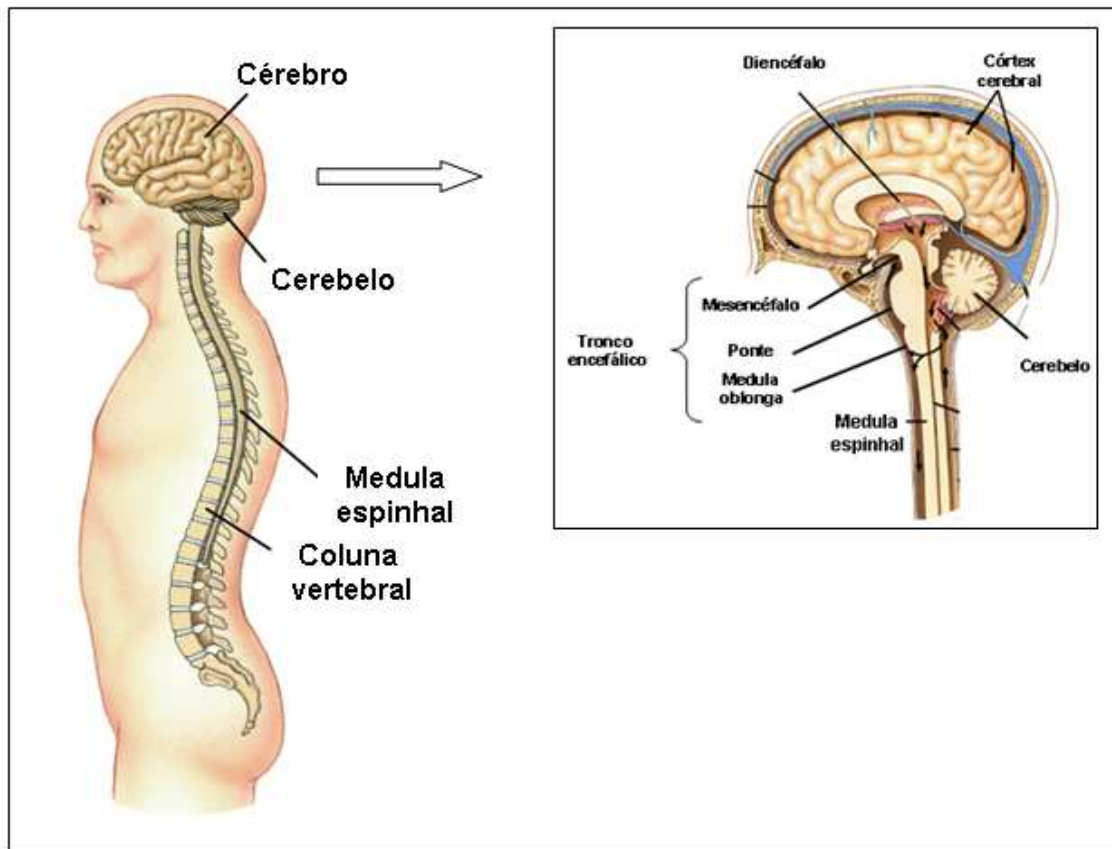


Figura 4. Organização anatômica do SNC (Fonte: Adaptado de SILVERTHORN, 2003).

Os hemisférios cerebrais constituem a maior divisão do cérebro humano. Essas estruturas contêm diversas subdivisões, incluindo o córtex cerebral, sua substância branca subjacente e núcleos de base. O córtex cerebral é responsável pelas funções de alto nível, incluindo percepção sensorial, planejamento e ordenação das funções motoras, funções cognitivas e linguagem. Do ponto de vista farmacológico, o córtex cerebral é o local de ação de muitos fármacos (GALANTER; LOWENSTEIN, 2009).

O sistema límbico consiste no giro do cíngulo, na formação hipocampal e nas amígdalas. Essas estruturas são responsáveis pelas emoções, pelo comportamento social, pelo controle autônomo, pela percepção da dor e memória (GALANTER; LOWENSTEIN, 2009).

O diencéfalo é dividido em tálamo e hipotálamo. Os neurônios do tálamo agem como auxiliares entre as vias sensoriais aferentes e o córtex cerebral, entre as regiões distintas do tálamo e o hipotálamo, e entre os gânglios da base e as regiões de associação

dos do córtex cerebral. Os núcleos talâmicos e os gânglios de base também exercem controle regulador sobre as funções viscerais (JONES, 1998)

O hipotálamo é a principal região de integração para todo o sistema nervoso autônomo, e dentre outras funções ele regula a temperatura corpórea, o equilíbrio hídrico, o metabolismo intermediário, a pressão sanguínea, os ciclos circadianos e sexual, a secreção da adeno-hipófise, o sono e a emoção (SWANSON, 1999).

O cerebelo possui lóbulos e folhas que se projetam para núcleos cerebrales profundos específicos, que enviam projeções seletivas para o córtex motor, através do tálamo, e para os núcleos do tronco cerebral envolvidos com a função vestibular. Além de manter o tônus adequado da musculatura antigravitacional e promover retroalimentação contínua durante os movimentos voluntários do tronco e das extremidades, o cerebelo também pode regular a função visceral (por exemplo, a frequência cardíaca, para manter o fluxo sanguíneo apesar das mudanças de postura) (BLOOM, 2006) e está envolvido na aprendizagem de atividades motoras (WILLIS-JUNIOR, 2006a).

O tronco encefálico é formado pelo mesencéfalo, a ponte e a medula oblonga (bulbo). O tronco encefálico conecta a medula espinhal ao tálamo e córtex cerebral. Além disso, ele dá origem à maioria dos nervos cranianos, nos quais alguns são condutos para a sensação da cabeça e da face, outros controlam a resposta motora aos músculos esqueléticos da mastigação, expressão facial, deglutição e movimento ocular. A medula contém centros que dirigem a descarga dos núcleos autônomos, marca-passos que regulam a frequência cardíaca e a respiração e centros que controlam ações reflexas. Estruturas de transmissão na ponte também desempenham papel na regulação de funções vitais, como a respiração. Os neurônios na substância cinzenta central, particularmente no mesencéfalo, emitem projeções descendentes para a medula espinhal, que modulam a percepção da dor (GALANTER; LOWENSTEIN, 2009).

A medula espinhal é organizada em tratos de substância branca e regiões de substância cinzenta. Os tratos de substância branca conectam a periferia e a medula espinhal com as divisões mais rostrais do SNC, enquanto a substância cinzenta localiza-se no centro da medula espinhal, em um padrão em H. Os neurônios da medula espinhal podem ser definidos em relação à substância cinzenta em neurônios sensitivos (localizados nos cornos dorsais), neurônios motores (localizados nos cornos ventrais) e interneurônios espinais. Os neurônios sensitivos transmitem a informação da periferia para o SNC, enquanto os neurônios motores transmitem comandos provenientes das áreas motoras

centrais do córtex para os núcleos periféricos. Os interneurônios conectam os neurônios sensitivos e motores e são responsáveis pela mediação de reflexos. Como a medula espinhal transporta sinais sensitivos – incluindo sensação de dor – para o SNC, trata-se de um importante alvo para fármacos analgésicos, como os opióides. (GALANTER; LOWENSTEIN, 2009).

Recentemente, uma terceira divisão do sistema nervoso - o sistema nervoso entérico - tem recebido atenção. Este é uma rede de neurônios das paredes do trato digestório, frequentemente controlado pelo sistema nervoso autônomo, mas capaz de funcionar de forma autônoma (SILVERTHORN, 2003).

2.3. PSICOFARMACOLOGIA

A psicofarmacologia é a parte da farmacologia voltada para o estudo dos efeitos das drogas que atuam no SNC, gerando alterações das funções mentais, principalmente quanto ao humor, emoções e atividade psicomotora. Estas drogas que atuam no SNC e que de alguma forma modificam o funcionamento cerebral são conhecidas como fármacos psicotrópicos (ALMEIDA; BARBOSA-FILHO, 2006).

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. O primeiro relato de tratamento da mania com lítio, realizado por Cadê ocorreu em 1949, 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; BALDESSARINI, 2005).

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).

As funções do SNC são bastante complexas e a classificação dos fármacos 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 uma

base única satisfatória e consistente para esta classificação (KATZUNG, 2003; BLOOM, 2006).

Com o intuito de contemplar o maior número de drogas que exercem efeito no SNC, Almeida e Barbosa-Filho (2006) classificaram as drogas psicotrópicas em:

- Psicoanalépticos (estimulantes da atividade do SNC), que inclui as drogas que excitam o psiquismo, tais como: agentes convulsivantes, drogas inibidoras do apetite, estimulantes da vigília, estimulantes maiores e menores e drogas antidepressivas;
- Psicolépticos (depressores da atividade do SNC), que inclui os neurolépticos (antipsicóticos), hipnóticos, ansiolíticos, analgésicos opióides, álcoois, anestésicos gerais e anticonvulsivantes;
- Psicodislépticos (alucinógenos ou perturbadores da atividade do SNC), cujas drogas compreendidas nesta classe não têm uso terapêutico, e podem ser divididas em alucinógenos verdadeiros (ex: ecstasy, LSD e heroína) e alucinógenos secundários (ex: atropina e escopolamina);
- Parapsicotrópicos, que correspondem aos medicamentos que não apresentam um perfil adequado a nenhuma das classes anteriores. São eles: estabilizadores do humor, drogas para o tratamento do alcoolismo e drogas antiparkinsonianas.

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

2.3.1. PSICONANALÉPTICOS

2.3.1.1. Antidepressivos

Os antidepressivos são usados no tratamento da depressão e na elevação do humor – que é um dos vários sintomas desse distúrbio (ALMEIDA; BARBOSA-FILHO, 2006). Os antidepressivos podem ser classificados de acordo com a estrutura química ou as propriedades farmacológicas. A estrutura cíclica (anéis benzênicos) caracteriza os antidepressivos heterocíclicos (tricíclicos e tetracíclicos) (MORENO; MORENO; SOARESM, 1999).

Atualmente os antidepressivos, preferencialmente, são classificados em função da ação farmacológica, mais útil na prática clínica porque os antidepressivos de nova geração não compartilham estruturas comuns. Podemos dividi-los de acordo com o mecanismo de ação proposto, aumentando a eficiência sináptica da transmissão monoaminérgica (particularmente de neurônios noradrenérgicos e/ou serotoninérgicos). Medicamentos antidepressivos produzem aumento na concentração de neurotransmissores na fenda sináptica através da inibição do metabolismo, bloqueio de recaptura neuronal ou atuação em autoreceptores pré-sinápticos (BEZCHLIBNYK-BUTLER; JEFFRIES, 1999; MORENO; MORENO; SOARES, 1999)

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 exemplo, 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).

2.3.2. PSICOLÉPTICOS

2.3.2.1. Neurolépticos

Os neurolépticos ou antipsicóticos são fármacos utilizados principalmente no tratamento de pacientes com psicose ou outras doenças psiquiátricas graves marcadas por agitação ou comprometimento do pensamento (BALDESSARINI; TARAZI, 2005).

Embora esses termos sejam frequentemente usados como sinônimos eles possuem uma ligeira, porém importante, diferença na sua conotação. O termo “neuroléptico” enfatiza as ações neurológicas dos fármacos, que se manifestam como efeitos adversos do tratamento (efeitos extrapiramidais). O termo “antipsicótico” denota a capacidade desses fármacos de abolir a psicose e aliviar a desorganização do processo mental nos pacientes esquizofrênicos (STANDAERT; GALANTER, 2009).

São classificados em neurolépticos clássicos ou típicos e os de nova geração ou atípicos (GOLDURÓZ; BARBOSA, 2006). Os neurolépticos típicos são aqueles que atuam bloqueando principalmente os receptores dopaminérgicos chamados D2, além dos

receptores muscarínicos do sistema colinérgico, atuando por antagonismo farmacológico na via mesolímbica, via essa postulada como causadora de sinais e sintomas das psicoses. Estão incluídos nessa classe de fármacos o haloperidol e a clorpromazina. Já os neurolépticos atípicos são definidos farmacologicamente como antagonistas da serotonina-dopamina, sendo menos específicos que os neurolépticos típicos por bloquearem mais de um sistema. Além disso, apresentam menos efeitos extrapiramidais (atuam com menor especificidade na via nigroestriatal) e possuem eficácia sobre os sintomas negativos da esquizofrenia (STHAL, 2000). Os cinco principais antipsicóticos atípicos incluem a clonazina, a olanzapina, a quetiapina, a ziprasidona e a risperidona (STANDAERT; GALANTER, 2009).

2.3.2.2. Antiepilépticos

O termo antiepiléptico é usado como sinônimo de anticonvulsivante para descrever fármacos usados para tratar epilepsia (que não causa convulsões necessariamente) bem como distúrbios convulsivos não-epilépticos (RANG et al., 2007).

Os antiepilépticos são fármacos que, quando administrados por um período prolongado, diminuem a incidência e/ou severidade da ocorrência das convulsões em pacientes com epilepsia. Estas drogas são usadas, principalmente, para supressão das convulsões epilépticas sem comprometimento do SNC e sem depressão respiratória (SCHLINGER; POLING, 1988; OLIVEIRA et al., 2001).

Os antiepilépticos atualmente disponíveis incluem quatro categorias: fármacos que aumentam a inibição mediada pelos canais de sódio (fenitoína, carbamazepina, ácido valpróico e lamotrigina), fármacos que inibem os canais de cálcio (etossuximida), fármacos que aumentam a inibição mediada pelo GABA (benzodiazepínicos - diazepam, lorazepam, midazolam, clonazepam; e barbitúricos – fenobarbital) e fármacos que inibem os receptores do glutamato (felbamato) (GRIFFIN; LOWENSTEIN, 2009).

2.3.2.3. Ansiolíticos e Hipnóticos

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 fármacos são os benzodiazepínicos (diazepam e clordiazepóxido),

buspirona (agonista do receptor 5-HT_{1A}), antagonistas dos receptores beta-adrenérgicos (propranolol); zolpidem (hipnótico que atua de forma semelhante aos benzodiazepínicos, porém sem grande atividade ansiolítica), barbitúricos (fenobarbital e pentobarbital, embora estejam obsoletos como ansiolíticos e hipnóticos), e outras drogas (hidrato de cloral, meprobamato e metaqualona) (SCHATZBERG; COLE; DEBATTISTA, 2003; ARGUROPOULUS; SANDFORD; NUTT, 2000).

Os benzodiazepínicos exercem um efeito ansiolítico através da inibição das sinapses no sistema límbico, uma região do SNC que controla o comportamento emocional e que se caracteriza por uma alta densidade de receptores GABA_A. Eles também são prescritos para o tratamento da insônia por facilitarem o início do sono e aumentarem a duração global do sono (FORMAN et al., 2009).

2.3.2.4. Relaxantes Musculares

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).

Dos Santos Jr. (1995) afirma que o uso desses medicamentos induz a um relaxamento central dos músculos pela supressão parcial dos impulsos nervosos para os músculos estriados. Esta modulação da contração muscular é atingida pela ação do medicamento no SNC. Estes compostos afetam a atividade neural associada com os reflexos de estiramento muscular (OKESON, 1996). No entanto, segundo Dionne (1997), não está claro se os relaxantes musculares (RM) agem somente no SNC ou se também possuem uma atividade de relaxamento específica.

2.3.2.5. Analgésicos de Ação Central

Os analgésicos de ação central ou analgésicos opióides são substâncias naturais, semi-sintéticas ou sintéticas que agem no cérebro, no tronco encefálico, na medula espinhal e nas terminações nervosas periféricas aferentes primárias, sua principal característica é a de aumentar o limiar da dor neuronal ao estímulo nocivo ou até mesmo erradicar a sensação dolorosa. Foram identificados pelo menos três tipos de receptores no SNC, onde os opióides se acoplam, a saber: receptores opióides mu (μ), kappa (κ) e sigma (σ)

(ALMEIDA; BARBOSA-FILHO, 2006; ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006a; GRIFFIN; WOOLF, 2009).

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 leitoso extraído da *Papaver somniferum* L. (papoula) (GUTSTEIN; AKIL, 2005; RANG et al., 2007).

Os seus efeitos variam de benéficos, como a analgesia, sensação de bem-estar e calma, até colaterais, como dependência, tolerância, sedação, náuseas, constipação e depressão respiratória, sendo necessário o conhecimento da dose e duração do tratamento adequado para evitar estes efeitos (GANGAROSA; MAHAN; CIARLONE, 1991). Segundo vários autores, (GANGAROSA; MAHAN; CIARLONE, 1991; OKESON, 1996; TUCKER; DOLWICK, 1996; TORTAMANO, 1997) os opióides são mais úteis em condições de dores agudas, quando há exacerbação da dor musculoesquelética, já que produzem menos efeitos colaterais quando usados num curto período de tempo (DOS SANTOS JR., 1995).

A morfina, a codeína (metilmorfina) e seus derivados semi-sintéticos constituem os opióides mais amplamente utilizados para o controle da dor. Tipicamente a morfina é considerada o opióide de referência com o qual os outros opióides são comparados. Os antagonistas dos receptores opióides são utilizados para reverter os efeitos colaterais potencialmente fatais da administração de opióides, especificamente a depressão respiratória. A naloxona, que é um desses antagonistas, é um derivado sintético da oximorfona, e utilizada através da administração por via parenteral (GRIFFIN; WOOLF, 2009).

2.4. DOR E NOCICEPÇÃO

A dor é uma percepção altamente individualizada, baseada em experiências e associações passadas, no contexto cultural e espiritual, constituição psicológica, bem como nos mecanismos físicos e fisiológicos. A International Association for the Study of Pain (IASP) definiu a dor como “uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada

com o dano tissular real ou potencial, ou descrita em termos deste dano” (WILDER-SMITH, 2007).

Pressupõe-se a existência de dois componentes envolvidos no processo doloroso: um é a sensação de dor ou nocicepção, induzida por estímulos nocivos, que podem ser exógenos, tais como biológicos, químicos, físicos ou ainda endógenos, caracterizados principalmente por processos inflamatórios, sendo consequência da transmissão dos citados estímulos pelas vias nervosas até o córtex cerebral. O outro componente seria a reação emocional à dor, que corresponderia à interpretação afetiva dessa sensação. A reação emocional à dor de caráter individual é representada principalmente por experiências prévias, tais como a lembrança de alguma forma de sofrimento. A percepção final da dor será consequência da integração de ambos os componentes (MORAES; CAMARGO, 1999; BRAUN-FILHO; BRAUN, 2004). Portanto, a dor não envolve apenas a transdução do estímulo nociceptivo ambiental, mas também envolve um evento cognitivo e emocional processado pelo cérebro. (JULIUS; BASBAUM, 2001).

Um estímulo nódico é capaz de provocar uma injúria real ou potencial, não causando necessariamente dor. Há uma diferença entre os termos nocicepção e dor; o primeiro se refere à manifestações neurofisiológicas geradas por estímulos nódicos, enquanto o segundo envolve a percepção de estímulos aversivos, os quais requerem a capacidade de abstração e a elaboração de impulsos sensoriais (MILLAN, 1999).

A dor pode ser classificada sob vários aspectos, e um deles leva em consideração sua distribuição temporal em aguda e crônica (VILELA-FILHO, 1998).

A dor aguda é de curta duração, geralmente persistente apenas no período de duração do dano tecidual e representa uma reação fisiológica natural do organismo. A dor crônica é definida como “aquela que persiste além do tempo razoável para a cura de uma lesão”. É também descrita como aquela associada a processos patológicos crônicos, que causam dor contínua ou recorrente em intervalos de meses ou anos (MERSKEY, 1994).

Outras classificações de dor, além das já mencionadas, incluem a dor nociceptiva, a neuropática, a somática, a referida e a visceral.

A dor nociceptiva é originada da ativação de neurônios nociceptivos primários, os quais têm função fisiológica importante, como a de proteger contra a lesão tecidual. A dor de origem inflamatória origina todas as formas de inflamação. (ZEILHOFER, 2007). No entanto, a dor neuropática tem sido definida como um estado de dor anormal consequente de uma lesão no SNP ou no SNC (FINNERUP; JENSEN, 2006). A dor inflamatória e a dor

neuropática podem exceder a duração da causa primária da dor, podendo tornar-se síndromes de dor crônica (ZEILHOFER, 2007). A dor somática tem origem na pele, músculos, articulações, ligamentos e ossos. Trata-se de uma dor bem localizada, circunscrita à área lesada e caracterizada por sensações claras e precisas (BRAUN-FILHO; BRAUN, 2004).

A dor visceral é a forma de dor que surge com mais frequência como consequência de enfermidades. É um sintoma comum na maioria das síndromes dolorosas agudas e crônicas de interesse clínico. Caracteriza-se por ser uma dor vaga, mal localizada e que se estendem além do órgão lesado, podendo ser referida em regiões distantes das vísceras que a originou (BRAUN-FILHO; BRAUN, 2004).

A dor referida manifesta-se quando a dor de uma estrutura somática ou visceral é sentida em local diferente da sua origem, porém inervada pelo mesmo nervo, isto é, quando há convergência dos neurônios das duas regiões para a mesma lâmina do corno dorsal (MENEZES, 1999). Como exemplo típico, os autores destacam a dor sentida no episódio de um infarto do miocárdio que pode se manifestar no ombro ou no braço esquerdo (VENÂNCIO, 2006).

A nociceção envolve a ativação específica de subpopulações de neurônios sensoriais primários que transmitem a informação nociceptiva para a medula espinhal de onde é retransmitida para níveis supra-espinhais (figura 4) (MILLAN, 1999). Após a lesão tecidual, pode haver a ativação de nociceptores através da liberação de vários neurotransmissores e neuromoduladores tais como, a substância P, glutamato, bradicinina, prostaglandinas, histamina, serotonina, e citocinas, como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β) e interleucina-18 (IL-18) (GILCHRIST et al., 1996). Como resultado, a sensibilização de fibras aferentes primárias transmite a informação da dor para os neurônios do corno-dorsal e, subsequentemente, para o centro superior do cérebro, resultando no estabelecimento da dor (BASBAUM; JESSEL, 2000; JULIUS; BASBAUM, 2001).

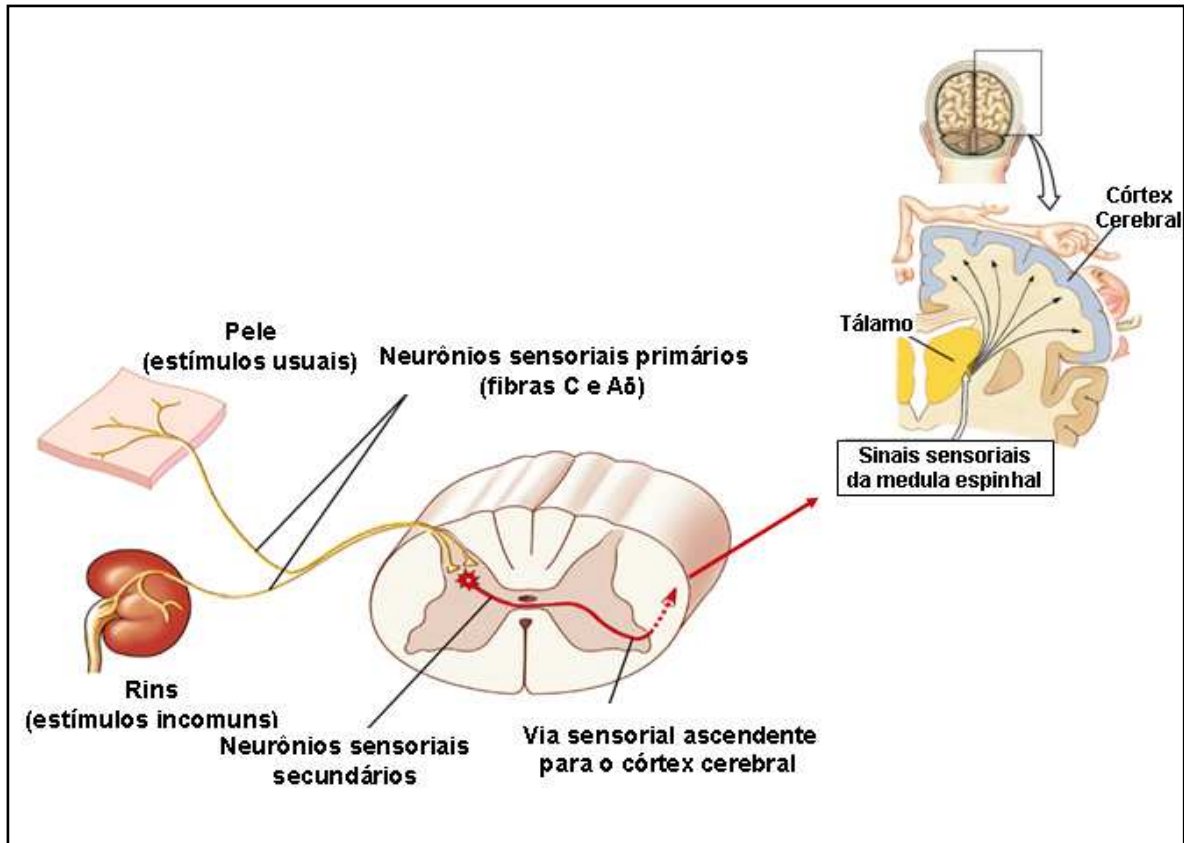


Figura 5. Visão geral do circuito nociceptivo (Fonte: Adaptado de SILVERTHORN, 2003).

Os nociceptores são terminações nervosas livres das fibras mielínicas A δ e das fibras amielínicas C localizadas na pele, músculos, articulações, tecido conjuntivo e vísceras (PINTO et al., 2000). As fibras A δ (por serem mielinizadas) conduzem o estímulo rapidamente, enquanto as fibras C (não-mielinizadas) conduzem o estímulo com baixa velocidade; esse grupo é conhecido como nociceptores polimodais C (JULIUS; BASBAUM, 2001).

Os nociceptores apresentam limiares mais elevados do que outros receptores e respondem progressivamente de acordo com a intensidade do estímulo. No entanto, a sensibilização de nociceptores causa redução dos limiares e, em alguns casos, a atividade espontânea (MILLAN, 1999; MENSE, 1983; WILLIS; WESTLUND, 1997).

O processo de transmissão da informação da periferia até a medula é feito pelas fibras nervosas A δ e C, envolvidas primariamente na nocicepção e, também pelas fibras mielinizadas, de condução rápida A β , participando de forma conjunta no processo doloroso (MARQUEZ, 2004).

As fibras A δ e C transferem a informação nociceptiva para a lâmina superficial (lâmina I e II) e para a lâmina profunda (V e VI) no corno dorsal, como também para a

lâmina circuncanular (lâmina X). Por outro lado, as fibras A β transmitem a informação de estímulos mecânicos inócuos para as lâminas profundas (III e IV) (MILLAN, 2002).

A informação nociceptiva é transmitida da medula espinhal para o tálamo e para o córtex cerebral por cinco vias ascendentes: os tratos espinotalâmicos, espinoreticular, espinomesencefálico, cervicotalâmico, espinohipotálâmico (BASBAUM; JESSEL, 2000; PINTO, 2000).

Existem vias antinociceptivas ou analgésicas de controle autônomo da dor. Estes sistemas endógenos de controle da dor podem ser ativados em diversas situações, como estresse, doenças, comportamento cognitivo ou mesmo pela própria dor (VENÂNCIO, 2006). O sistema de modulação mais conhecido é o da Teoria da Comporta, segundo a qual as fibras mielínicas grossas A β (responsáveis pela condução do tato, propriocepção e pressão) excitariam os interneurônios inibitórios da substância gelatinosa de Rolando (lâmina III), os quais promoveriam a inibição pré-sináptica dos aferentes nociceptivos, que por sua vez, inibiriam os interneurônios inibitórios e, ao mesmo tempo, excitariam neurônios das vias de projeção da dor. Esta teoria explicaria o fato de que a estimulação tátil de uma área dolorosa diminui a sensação de dor (VILELA-FILHO, 1998). Os impulsos táteis chegam à medula ao mesmo tempo em que os impulsos dolorosos, por suas vias respectivas. E os impulsos táteis podem inibir a transmissão sináptica entre o neurônio primário nociceptivo e o neurônio secundário, constituindo-se assim a primeira via do controle da dor (VENÂNCIO, 2006).

As vias descendentes originadas de estruturas cerebrais têm um importante papel na modulação e integração das mensagens nociceptivas no corno dorsal da medula espinhal. Vias serotoninérgicas, noradrenérgicas e, em menor proporção, as dopaminérgicas compreendem os maiores componentes dos mecanismos descendentes (MILLAN, 1999).

De fato, as vias descendentes podem modular a nocicepção interagindo com vários elementos neuronais, entre eles os terminais das fibras aferentes primária, os neurônios de projeção, os interneurônios excitatórios e inibitórios e os terminais de outras vias ascendentes. É importante mencionar que os neurônios de projeção e os interneurônios específicos para a nocicepção estão predominantemente localizados na lâmina superficial, respondendo apenas a estímulos dolorosos, enquanto outros, principalmente na lâmina profunda, são excitados apenas por estímulos inócuos (MILLAN, 2002).

Sabe-se também que existem vias descendentes moduladoras da dor que se originam no córtex somestésico e no hipotálamo, projetando-se no mesencéfalo, mais

precisamente na substância cinzenta periaquedutal; e daí para os núcleos da rafe, que se interligam ao corno dorsal da medula espinhal (VENÂNCIO, 2006).

A estimulação elétrica ou farmacológica desses núcleos tem ação inibitória nociceptiva na medula, provocando o bloqueio da dor. Os sistemas inibitórios descendentes (cerebrais) caracterizam-se, principalmente, em duas vias descendentes: uma utiliza a β -endorfina, a serotonina e a encefalina como mediadoras; enquanto que a outra via parece ter efeitos inibitórios medulares pela estimulação α -adrenérgica, que coincide com os efeitos analgésicos da clonidina, quando aplicada por via intratecal (VALE, 2000).

Os mecanismos inibitórios também podem ser segmentares, como ocorre no corno dorsal da medula espinhal. Neste nível, a estimulação das terminações aferentes primárias provoca a inibição da liberação dos neurotransmissores, principalmente da substância P (neurotransmissor nociceptivo) (VALE, 2000).

2.5. TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DA DOR

Analgesia é o termo empregado para o alívio ou o cessar da sensação dolorosa sem, no entanto, ocorrer a perda da consciência. As substâncias capazes de causar analgesia são designadas analgésicos (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006a). Diversas classes de fármacos são amplamente utilizadas para o alívio da dor. Esses fármacos incluem os agonistas dos receptores opióides, os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs), os antidepressivos tricíclicos, os anticonvulsivantes, os antagonistas do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) e os agonistas adrenérgicos. Além disso, os agonistas dos receptores da 5-hidroxitriptamina tipo 1 (5HT₁) possuem aplicações específicas no tratamento agudo da enxaqueca (GRIFFIN; WOOLF, 2009).

Os agonistas dos receptores opióides podem modificar tanto os aspectos sensitivos da dor quanto o emocional. Agem via ligação a receptores específicos no SNC e SNP, inibindo a nociceção. O mecanismo de ação dessas substâncias, no processo nociceptivo, ocorre pela interação com receptores opióides, levando ao fechamento dos canais de cálcio (Ca²⁺) voltagem-dependentes nas terminações nervosas pré-sinápticas, o que reduz a liberação de neurotransmissores. Além disso, a ativação desses receptores leva a abertura de canais de potássio (K⁺), produzindo hiperpolarização da membrana celular de neurônios pós-sinápticos, reduzindo a liberação de neurotransmissores (por exemplo, substância P) (DICKESON, 1997; GRAEFF; GUIMARÃES, 1999).

O uso de fármacos opióides no tratamento da dor é limitado pela intensa quantidade de efeitos colaterais graves que essas substâncias causam nos pacientes. Dentre esses efeitos, merecem mais atenção a tolerância, dependências física e psíquica, além de náuseas e vômitos (OLIVEIRA, 2009).

Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) atuam inibindo a atividade das enzimas ciclooxigenases (COX-1 e COX-2), que são necessárias para a produção de prostaglandinas. Os AINEs afetam as vias da dor por pelo menos três mecanismos diferentes. Em primeiro lugar, as prostaglandinas reduzem o limiar de ativação nas terminações periféricas dos neurônios nociceptores aferentes primários, diminuindo a hiperalgesia inflamatória e anodinia. Em segundo lugar, os AINEs diminuem o recrutamento de leucócitos e, portanto, a produção de mediadores inflamatórios derivados dos leucócitos. Em terceiro lugar, os AINEs atravessam a barreira hematoencefálica e impedem a geração de prostaglandinas que atuam como neuromoduladores produtores de dor no corno dorsal da medula espinhal. São exemplos de AINEs o ácido acetilsalicílico, o diclofenaco, a indometacina, o ibuprofeno e o piroxicam (GRIFFIN; WOOLF, 2009).

Os antidepressivos tricíclicos são analgésicos adjuvantes efetivos em algumas condições dolorosas. O efeito deles é distinto daquele empregado nos distúrbios do humor, sendo indicados principalmente no tratamento da dor neuropática. O mecanismo de ação dos antidepressivos como analgésicos ainda não está bem esclarecido. A explicação padrão é que eles agiriam em áreas cerebrais moduladas pela serotonina e noradrenalina, que transmitem o estímulo doloroso pela medula espinhal. Essa explicação é insatisfatória, mas o fato é que os antidepressivos têm papel importante no alívio da dor crônica (McQUAY, 1997; MORAES; CAMARGO, 1999).

Diversos agentes anticonvulsivantes podem ser empregados para controlar os sintomas de algumas condições da dor crônica. Entre esses fármacos, os que possuem maior valor clínico para tal finalidade são a gabapentina, a pregabalina, a lamotrigina e a carbamazepina (GRIFFIN; WOOLF, 2009).

Na prática clínica, a cetamina representa um dos poucos antagonistas NMDA disponíveis, apresentando propriedade analgésica não relacionada ao receptor NMDA, como a ativação do sistema inibitório descendente monoaminérgico, envolvidos na modulação de processos nociceptivos e geralmente ativados por opióides sistêmicos (LODGE; JOHNSON, 1990; PEKOE; SMITH, 1982).

Os agonistas α_2 -adrenérgicos através da estimulação dos seus respectivos receptores no corno dorsal da medula espinhal produzem um estado antinociceptivo. No caso da clonidina, ocorre ligação a nível pré-sináptico com as terminações nociceptivas A δ e C reduzindo a liberação de neurotransmissores, e a nível pós-sináptico, pela hiperpolarização dos neurônios de segunda ordem dentro da medula espinhal (RATHMELL; LAIR; NAUMAN, 2005).

Muitos fármacos utilizados no tratamento da dor são ativos por via sistêmica e/ou em partes do sistema nervoso que não estão relacionadas com a sensação somática, por isso os analgésicos podem produzir efeitos adversos deletérios (GRIFFIN; WOOLF, 2009). Este fato conduz a estudos que buscam novos fármacos analgésicos com maior eficácia e menos efeitos adversos do que as terapias atuais.

Objetivos

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

- Avaliar as possíveis ações psicofarmacológicas do extrato etanólico de *Herissantia crispa* (EEHC), pela investigação de seus efeitos no SNC, contribuindo para o conhecimento das atividades farmacológicas desta espécie vegetal.

3.2. ESPECÍFICOS

- Avaliar os possíveis efeitos tóxicos do EEHC e determinar as doses seguras para realização dos experimentos através da DL_{50} ;
- Investigar possível efeito ansiolítico, anticonvulsivante, sedativo-hipnótico, na coordenação motora e antinociceptivo do EEHC em modelos animais.

*Materiais e
Métodos*

4. MATERIAIS

4.1. ANIMAIS EXPERIMENTAIS

No desenvolvimento do presente estudo, foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) da linhagem Swiss, machos, albinos com peso variando entre 25 - 35 g, com aproximadamente três meses de idade (Figura 6), provenientes do Biotério Prof. Dr. Thomas George no Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais (NPPN) do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, sob condições monitoradas de temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), com livre acesso a uma dieta controlada à base de ração tipo *pellets* (Purina[®]) e água, disponível em garrafas de polietileno com bicos de inox. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 6h00 às 18h00 horas e a fase escura das 18h00 às 6h00 horas. Foram utilizados grupos de 6 a 8 camundongos e o sacrifício dos animais foi realizado de acordo com os princípios preconizados pelo comitê de ética.

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) do LTF/UFPB com o registro nº 0607/08.



Figura 6. Camundongo *Swiss*.

4.2. 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/UFPB, na qual 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, durante o período de adaptação ao ambiente e durante os experimentos.

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 08h00 e 12h00, sendo os animais utilizados uma única vez e, em seguida, eutanasiados por deslocamento cervical.

4.3. SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS

- Ácido acético glacial (Synth – E.U.A.);
- Água destilada (LTF/ UFPB – Brasil);
- Cloridrato de morfina (Merck – E.U.A.);
- Cremofor (Sigma – E.U.A.);
- Diazepam (Merck – Brasil);
- Etanol (LTF/ UFPB – Brasil);
- Fenitoína (Sigma – E.U.A.);
- Formaldeído 37% (Vetec – Brasil);
- Naloxona (Sigma – E.U.A.);
- Tiopental Sódico (Cristália - Brasil).

4.4. PREPARAÇÃO E ADMINISTRAÇÃO DO EXTRATO

O extrato etanólico de *Herissantia crispa* (L.) Brizicky, foi fornecido pela Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza (Laboratório de Fitoquímica do LTF/UFPB) e sua obtenção foi realizada de acordo com a seguinte marcha: as partes aéreas do vegetal foram coletadas, secas em estufa de ar circulante a 40°C e pulverizadas; o pó seco da planta foi submetido à maceração em etanol a 95% por 72 horas e o líquido extrator foi concentrado sob pressão reduzida em rotaevaporador, fornecendo o extrato etanólico.

O extrato etanólico de *Herissantia crispa* (EEHc) foi solubilizado em água com cremofor (0,2 %) e todas as substâncias foram preparadas imediatamente antes de cada experimento, utilizando-se concentrações decimais de forma a possibilitar a administração de 0,1 mL/10 g de peso do animal. As concentrações utilizadas na diluição do extrato foram 500 e 800 mg/kg de peso animal e a via de administração escolhida foi a via intraperitoneal (i.p.).

4.5. APARELHAGEM

4.5.1. Aparelho de rota-rod

O modelo do aparelho do rota-rod utilizado foi o Accelerating Rota-rod 7750; Jones e Roberts (UGO BASILE – Itália) (figura 7). Constitui-se de uma barra giratória não escorregadia, com 5,5 cm de diâmetro e 40 cm de comprimento, dividida em cinco compartimentos iguais, separados por cinco discos plásticos de 48 cm de diâmetro cada, com velocidade regulável em rotações por minuto (r.p.m.). Este aparelho ainda dispõe de um mecanismo automático capaz de contabilizar o tempo de permanência do animal na barra giratória.

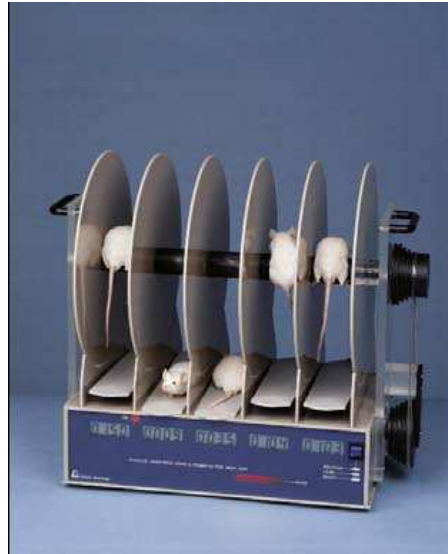


Figura 7. Aparelho de rota-rod.

4.5.2. Aparelho de campo aberto (Open field)

O aparelho consiste em uma superfície de acrílico marcada com círculos, no qual o mais externo mede 28 cm de diâmetro, sendo circundada por um cilindro de acrílico com 28 cm de diâmetro e 30 cm de altura. A superfície é dividida em 12 campos (com linhas pintadas de preto) (figura 8).



Figura 8. Aparelho de campo aberto.

4.5.3. Aparelho de labirinto em cruz elevado

O labirinto em cruz elevado é feito de plástico e consiste em quatro braços, sendo dois braços com paredes laterais e sem cobertura (braços fechados), medindo 30 cm de comprimento por 6 cm de largura e 16 cm de altura, colocados perpendicularmente a dois braços desprovidos de paredes laterais (braços abertos) com o mesmo comprimento e largura. Cada braço é posicionado a 90° do braço adjacente e cruzam-se numa área central onde o animal é posicionado. O labirinto é apoiado sob um suporte com 25 cm elevado em relação ao solo (figura 9).



Figura 9. Aparelho de labirinto em cruz elevado.

4.5.4. Aparelho de eletrochoque auricular

O aparelho utilizado para aplicar impulsos elétricos nos camundongos foi o ECT UNIT 7801 da UGO BASILE (Comerio, VA, Itália) (figura 10). Este aparelho libera um choque auricular com corrente de 0,5 mA de intensidade, a uma frequência de 150 pulsos/segundos e com duração de 0,5 segundo.



Figura 10. Aparelho do eletrochoque auricular.

4.5.5. Aparelho de placa quente

A placa quente permite avaliar a atividade de drogas antinoceptivas por meio de um aparelho cuja temperatura de sua placa, localizada na superfície superior, pode ser controlada entre 45 e 62°C, em incrementos de 0,1°C. Neste aparelho, um cronômetro acoplado é ativado por um pedal externo que permite a medida precisa do tempo de reação do animal ao estímulo térmico. Acoplado à placa, há um cilindro de acrílico transparente, que isola o animal para observação sobre o aparelho (figura 11)

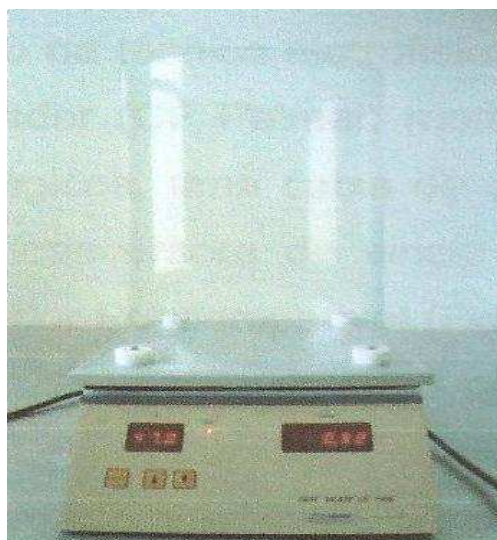


Figura 11. Aparelho de placa quente.

4.5.6. Caixa de observação para o teste da formalina

Este aparato é formado de um encaixe de metal que forma uma caixa triangular com ângulos 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 12).

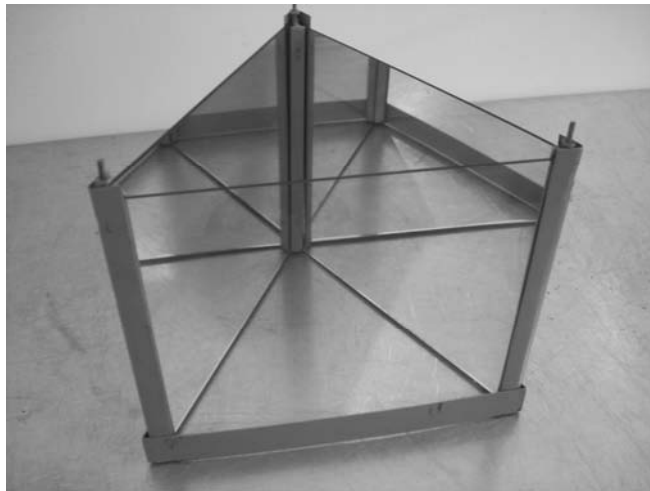


Figura 12. Caixa de observação para o teste da formalina.

5. MÉTODOS

Todos os métodos utilizados para o estudo psicofarmacológico do extrato etanólico de *H. crisper* (EEHc) em camundongos estão esquematizados na figura 13.

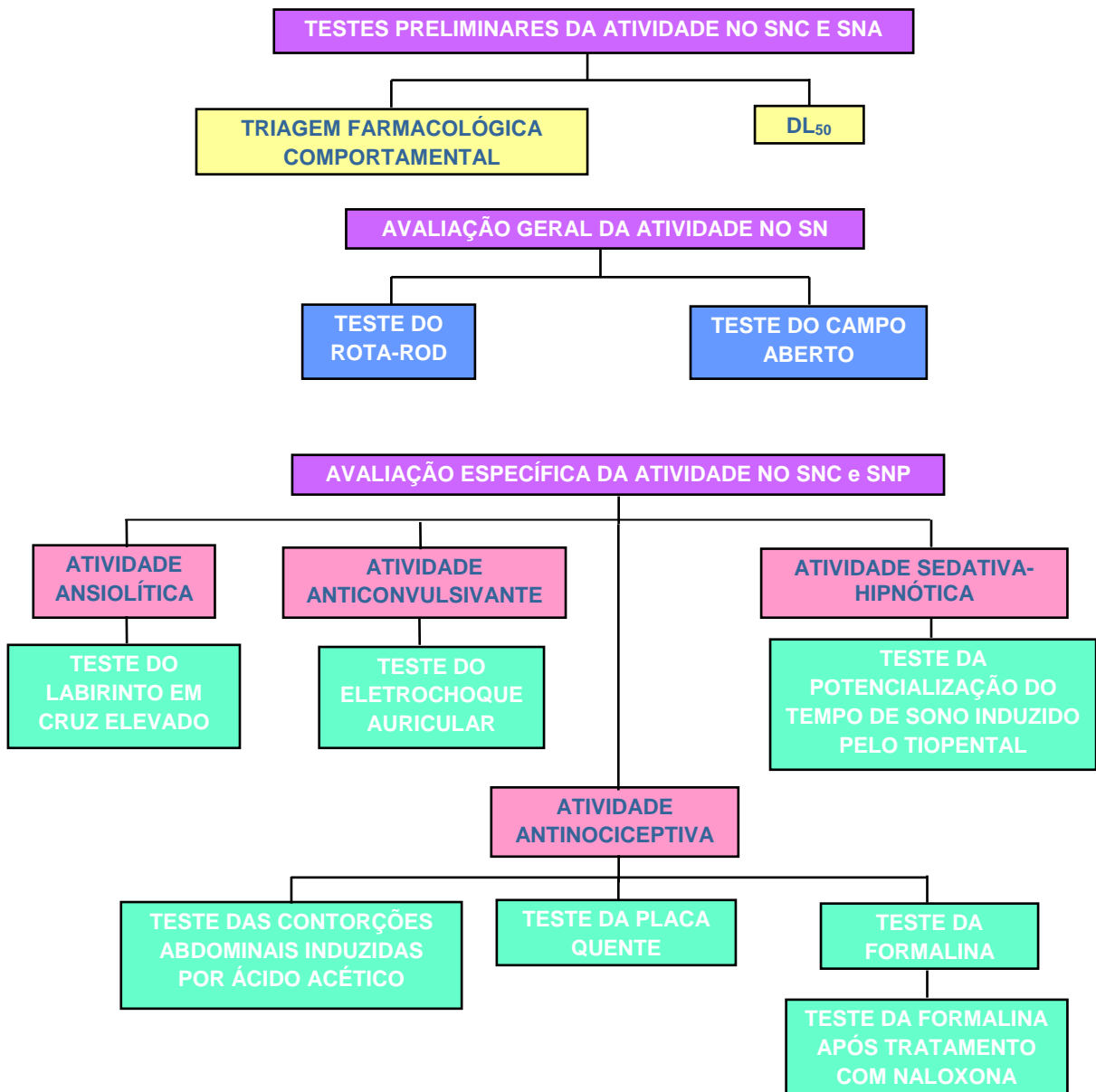


Figura 13. Resumo esquemático do estudo psicofarmacológico do EEHc em camundongos.

5.1. AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL E AUTÔNOMO

5.1.1. Triagem Farmacológica Comportamental e Determinação da Dose Letal 50% (DL₅₀)

A triagem farmacológica comportamental é uma metodologia preliminar para avaliar o possível efeito de uma droga no SNC e SNA, na qual são observados alguns parâmetros comportamentais no animal que possibilitam caracterizar o efeito central da droga (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006b; ALMEIDA et al., 1999). Assim, esse modelo e a determinação da DL₅₀ permitem avaliar se determinadas drogas ou extratos vegetais apresentam toxicidade, possibilitando o estudo farmacológico de plantas com uma determinada margem de segurança (ALMEIDA et al., 1999).

Os experimentos foram realizados de acordo com o protocolo experimental descrito por Almeida e colaboradores (1999), adotado pelo Laboratório de Psicofarmacologia Prof. Dr. Elizaldo A. Carlini que investiga as influências sobre o SNC e SNA. Os efeitos observados em cada período de tempo eram computados como ausente ou presente. Caso o efeito estivesse presente, um escore de intensidade era marcado com + (efeito aumentado) ou ++ (efeito intenso). Caso os comportamentos observados estivessem reduzidos ou ausentes, o efeito do extrato era computado como – (efeito diminuído) ou 0 (ausente).

Foram utilizados camundongos machos (n = 8) separados em dois grupos, experimental (extrato) e grupo controle (o veículo utilizado nas preparações – água e cremofor). Foi escolhida a via i.p. e foram administradas as doses 500, 1000 e 2000 mg/kg de peso animal.

Parâmetros comportamentais descritos no protocolo experimental (em anexo) foram observados durante as 4 primeiras horas nos intervalos de 30, 60, 120, e 240 minutos. A ocorrência de alterações comportamentais nos animais, em decorrência do tratamento com EEHc, permite inferir uma relação com a atividade no sistema nervoso central e, conseqüentemente, sinais de toxicidade.

Os animais foram observados ainda a cada 24 horas até que se completasse um período de 72 horas com a finalidade de verificar se haveria alguma morte e, conseqüentemente, determinar a DL₅₀ do EEHc na via de administração empregada (i.p.).

5.2. AVALIAÇÃO GERAL DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO

5.2.1. Teste da Barra Giratória Rota-rod

O teste da barra giratória rota-rod foi proposto por Dunham e Miya (1957). É uma metodologia utilizada na triagem de drogas com possível atividade neurotóxica/mio-relaxante e consiste em avaliar a coordenação motora do animal, através do tempo de permanência deste em uma barra giratória (COPASSO et al., 1996).

É apropriado para detectar o efeito de relaxamento muscular ou de incoordenação motora produzido por agentes farmacológicos, tais como relaxantes musculares esqueléticos ou depressores do SNC, como os ansiolíticos (CARLINI; BURGOS, 1979; MATTEI; FRANÇA, 2006; PULTRINI; GALINDO; COSTA, 2006).

Vinte e quatro horas antes do teste foi realizada uma pré-seleção dos animais (sem administração de substâncias) na qual foram considerados aptos ao teste os animais que permaneceram na barra giratória (7 r.p.m.) durante três minutos, em pelo menos uma das três tentativas (MENDES; MATTEI; CARLINI, 2002; DE SOUSA et al., 2007).

No dia do teste, os camundongos foram divididos em três grupos de seis animais cada e, inicialmente, foi realizada uma leitura basal. Os camundongos foram colocados na barra giratória e o tempo de permanência dos mesmos no aparelho foi cronometrado. Em seguida, os animais do grupo experimental foram tratados nas doses de 500 e 800 mg/kg com o EEHc. O grupo controle recebeu o veículo. Após 30 minutos da administração, os animais foram colocados no aparelho e foi registrado o tempo de permanência deles sobre a barra giratória. Este procedimento foi repetido com 60 e 120 minutos após a administração.

5.2.2. Teste do Campo Aberto

Originalmente descrito por Hall (1934) como uma arena circular para testar os efeitos de ambientes não familiares sobre a emocionalidade em ratos, o teste do campo aberto é um procedimento conveniente para medir não apenas comportamento de ansiedade, mas também sedação ou atividade exploratória do animal (PRUT; BELZUNG, 2003). A tendência natural do animal em um ambiente novo é a de explorá-lo, apesar do estresse e do conflito provocado pelo mesmo (MONTGOMERY, 1955).

O campo aberto é utilizado para avaliar o potencial ansiolítico de drogas. O formato mais comum do campo aberto é o circular (STEIN; BUENO; XAVIER, 1994).

Foram utilizados um total de três grupos: dois grupos de oito camundongos tratados com o EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg, i.p. e um grupo controle foi tratado com o veículo. Trinta minutos após os tratamentos, os animais foram colocados individualmente no centro da arena para explorar livremente o ambiente novo durante um período de cinco minutos. Os seguintes parâmetros foram observados: ambulação (número de cruzamentos dos segmentos pelo animal com as quatro patas), número de comportamentos de levantar, o número de comportamentos de autolimpeza e defecação (número de bolos fecais) (MONTGOMERY, 1955; LEITE; SIQUEIRA, 2006).

Antes da introdução de cada animal, o aparelho foi limpo com álcool a 10% para eliminar possíveis pistas decorrentes de odores deixados por outros animais.

Alguns estudos têm demonstrado que alterações nesses parâmetros têm correlação com a ansiedade no homem (MASUR; MARTZ; CARLINI, 1971).

5.3. AVALIAÇÃO ESPECÍFICA DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL E PERIFÉRICO

5.3.1. Estudo da Atividade Ansiolítica

5.3.1.1. Teste do Labirinto em Cruz Elevado

O labirinto em cruz elevado é comumente usado como modelo não-condicionado de ansiedade em roedores (FLINT, 2003; BRADLEY et al., 2007). Foi utilizado, inicialmente, por Handley e Mithani em 1984, a partir de um modelo criado por Montgomery em 1955 (PEREZ, 1998), sendo utilizado largamente em modelo animal de ansiedade. Quando colocado nesse aparelho, o animal mostra sinais de medo tais como: congelamento, defecação, micção e aumento do nível plasmático do hormônio do estresse, a cortisona (GRAEFF; GUIMARÃES, 1999)

Este modelo baseia-se no conhecimento de que roedores evitam lugares abertos e elevados. O animal tipicamente entrará com maior frequência e permanecerá mais tempo nos braços fechados. Uma maior intensidade de ansiedade equivale a menor preferência pelos braços abertos (MORATO; BRANDÃO, 1997).

Foram utilizados quatro grupos de seis camundongos: dois grupos tratados com EEHC nas doses de 500 e 800 mg/kg, um grupo controle foi tratado com o veículo e um grupo padrão com o diazepam, na dose de 0,5 mg/kg.

Trinta minutos após os tratamentos, os camundongos foram colocados individualmente no centro do labirinto, para que eles pudessem explorar o ambiente. Os parâmetros avaliados durante um período de cinco minutos foram o número de entradas e o tempo total de permanência nos braços abertos e fechados.

A entrada nos braços foi definida como a entrada do animal com todas as quatro patas dentro do braço (PELLOW et al., 1985; GRUNDMANN et al., 2007).

5.3.2. Estudo da Atividade Anticonvulsivante

5.3.2.1. Teste das Convulsões Induzidas pelo Eletrochoque Auricular

O teste das convulsões induzidas pelo eletrochoque auricular foi inicialmente descrito por Merrit e Putman (1938). O eletrochoque induz extensão tônica dos membros posteriores em 99% dos animais (SWINYARD, 1969).

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 utilizados neste experimento quatro grupos de seis camundongos, os quais dois grupos foram tratados nas doses de 500 e 800 mg/kg com o EEHc, um grupo controle que recebeu o veículo e um grupo padrão foi tratado com fenitoína na dose de 25 mg/kg.

O estímulo elétrico foi aplicado através dos eletrodos com cliques auriculares nos camundongos após 30 minutos da administração das substâncias. Os parâmetros avaliados foram a presença de convulsões tônicas, o tempo de flexão e extensão das patas posteriores (duração da convulsão) e o número de mortes (TORTORIELLO; ORTEGA, 1993).

5.3.3. Estudo da Atividade Sedativa-Hipnótica

5.3.3.1. Teste da Potencialização do Tempo de Sono Induzido pelo Tiopental

Este teste parte do princípio de que drogas depressoras do SNC, em geral, reduzem a latência e/ou aumentam a duração do sono induzido por um barbitúrico, uma vez que quando duas drogas possuem o mesmo efeito farmacológico, eles se somam (RILEY; SPINKS, 1958; MANDAL et al., 2001).

O tiopental é uma droga sedativo-hipnótica da classe dos barbitúricos, cujos efeitos dependem da via de administração e da dose utilizada (KATZUNG, 2003).

Foram utilizados quatro grupos de oito camundongos, sendo dois grupos tratados com o EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg, um grupo controle que recebeu o veículo e um grupo padrão que foi tratado com diazepam na dose de 5 mg/kg. Após 30 minutos dos respectivos tratamentos, o tiopental foi administrado na dose de 35 mg/kg i.p. Após terem adormecido, os animais foram colocados na posição de decúbito dorsal, quando foi

acionado um cronômetro e anotado o tempo decorrido entre a perda e a recuperação do reflexo de endireitamento (tempo de sono). A perda do reflexo de endireitamento (latência) é a perda da capacidade que o animal apresenta de voltar à posição normal quando colocado em decúbito dorsal. O critério para a recuperação do reflexo de endireitamento foi fixado quando o animal sai da posição imposta por três vezes consecutivas. (CARLINI et al., 1986; MATTEI et al., 1998).

5.3.4. Estudo da Atividade Antinociceptiva

5.3.4.1. 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 1% 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 quatro grupos de oito camundongos foram usados, sendo que dois grupos receberam o pré-tratamento com o EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg, um grupo controle recebeu o veículo e outro grupo recebeu morfina (6 mg/kg) que funcionou como padrão positivo. Trinta minutos após os tratamentos iniciais, os animais foram tratados com solução de ácido acético 1% em água destilada (0,1 mL/10 g) por via i.p. e colocados em caixas de polietileno individuais, cinco minutos depois, foi então registrado o número de contorções abdominais apresentado por cada animal durante um período de 10 minutos de observação. Uma redução significativa do número de contorções quando comparado ao grupo controle negativo é considerada uma resposta antinociceptiva (NARAYANAN et al., 2000; BASTOS et al., 2006).

5.3.4.2. Teste da Placa Quente

Este teste, descrito por Eddy e Leimback (1953), representa uma modificação do modelo original de Woolfre e MacDonald (1944). Consiste em quantificar o tempo de reação do animal ao estímulo térmico de $50 \pm 1^\circ\text{C}$, quando é exibido o comportamento de levantar (tentativa de pular) ou lambe uma das patas (SILVA et al., 2005a), sendo estas respostas indicativas de nociceção (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006a). O estímulo térmico do teste da placa quente é utilizado para avaliar a atividade analgésica mediada por mecanismos centrais (AL-GHAMDI, 2001). Os animais foram submetidos a uma pré-seleção (sem administração de substâncias), na qual foram considerados aptos os animais que permaneceram na placa por um tempo máximo de 10 segundos.

Foram utilizados neste experimento quatro grupos de oito camundongos, sendo que dois grupos foram tratados nas doses de 500 e 800 mg/kg com EEHc, um grupo controle que recebeu o veículo e um grupo padrão foi tratado com morfina na dose de 10 mg/kg. Trinta minutos após o tratamento os animais foram colocados na placa quente, sendo registrado o tempo de latência, que é o tempo compreendido entre a colocação do animal na placa pré-aquecida e a tentativa do animal de saltar ou lambe uma das patas. Este procedimento foi repetido com 60 e 120 minutos após a administração. Os animais que permaneceram na placa por um tempo máximo de 30 segundos, para evitar a lesão tecidual (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006a).

5.3.4.3. Teste da Formalina

O teste da formalina foi introduzido por Dubuisson e Dennis (1977), e posteriormente modificado para uso em camundongos por Hunskaar e Hole (1987). No entanto, este teste foi realizado como descrito por Vaz e colaboradores (1996), que é uma modificação do modelo de Hunskaar e Hole (1987).

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 fases em que é quantificado o tempo de lambida da pata. A primeira fase, normalmente ocorre nos cinco primeiros minutos após a injeção da formalina e, provavelmente, é resultante da estimulação direta de nociceptores; a inibição dessa fase é

indicativa de drogas analgésicas que atuam em nível central. Em seguida, há uma interfase de aproximadamente 10 minutos caracterizada por mecanismos inibitórios da dor. A segunda fase (15-30 minutos após o tratamento) é conhecida principalmente por uma resposta inflamatória, gerada tanto pela estimulação de nociceptores como pela liberação de mediadores inflamatórios (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

Neste experimento foram utilizados quatro grupos de oito camundongos, sendo dois grupos experimentais tratados nas doses de 500 e 800 mg/kg com EEHc, um grupo controle que recebeu o veículo e um grupo padrão foi tratado com morfina na dose de 10 mg/kg. Após trinta minutos, 20 µL de solução de formalina 2,5% (0,92% de formaldeído diluído 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 cinco minutos (1ª fase). Após um período de 10 minutos, novamente foi registrado o parâmetro citado por mais 15 minutos (2ª fase).

5.4. AVALIAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA OPIÓIDE NO MECANISMO DE AÇÃO

5.4.1. Teste da Formalina após Tratamento com Antagonista Opióide

Com o objetivo de avaliar a participação do sistema opióide sobre o efeito antinocepcivo do EEHc, foram utilizados três grupos de oito animais. E estes grupos receberam o tratamento com o antagonista opióide não seletivo, naloxona, na dose de 6 mg/kg subcutânea (s.c.), 15 minutos antes dos grupos serem tratados com o EEHc na dose de 800 mg/kg, o grupo controle receber o veículo e o grupo padrão receber morfina na dose de 10 mg/kg. Dessa forma, seria possível verificar se o efeito analgésico do EEHc corresponderia ao bloqueio de receptores opióides e se o grupo padrão, morfina, que reconhecidamente tem o seu efeito analgésico reduzido pelo antagonismo da naloxona aos receptores opióides, teria efetivamente o seu efeito suprimido. Trinta minutos após este tratamento todos os oito animais de cada um dos cinco grupos foram submetidos ao teste da formalina (TJOLSEN et al., 1992).

5.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como a média \pm erro padrão da média (e.p.m.) ou percentagem, e analisados estatisticamente utilizando o teste “t” de Student não pareado para medidas paramétricas e o teste de Mann-Whitney para medidas não paramétricas. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando apresentaram um $p < 0,05$.

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

Resultados

6. RESULTADOS

6.1. AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL E AUTÔNOMO

6.1.1. Triagem Farmacológica Comportamental e Determinação da DL₅₀

O primeiro modelo experimental para investigar a atividade farmacológica do EEHc foi a triagem comportamental e determinação da DL₅₀, com a finalidade de obter doses com margem de segurança para a realização dos experimentos. No modelo de triagem comportamental, foram avaliados parâmetros comportamentais que caracterizam a toxicidade de uma determinada amostra vegetal sob o SNC e SNA (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006b; ALMEIDA et al., 1999).

Considerando os parâmetros citados por Almeida e colaboradores (1999), os animais tratados com o EEHc nas doses crescentes até 2000 mg/kg (i.p.), apresentaram apenas um pequeno grau de ptose e uma pequena redução da ambulação. Os demais comportamentos relacionados ao SNC e SNA não foram alterados quando comparados com seus respectivos grupos controle, durante o tempo de observação preconizado. Dessa forma, a amostra vegetal estudada não apresentou toxicidade, uma vez que os parâmetros comportamentais centrais e autônomos não foram alterados.

Observou-se que o EEHc, nas condições avaliadas, não causou sinais tóxicos e mortes nos animais durante as 72 horas após a administração, impossibilitando a determinação da DL₅₀.

Com base nos resultados obtidos, o EEHc passou a ser investigada quanto à sua atividade psicofarmacológica. As doses utilizadas para extratos brutos não devem ultrapassar 1000mg/kg (SOUZA BRITO, 1994). As doses utilizadas foram, portanto, de 500 e 800mg/kg (i.p.).

6.2. AVALIAÇÃO GERAL DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO

6.2.1. Teste da Barra Giratória Rota-rod

De acordo com o gráfico 1, os animais tratados com o EEHc não apresentaram perda da coordenação motora, pois o número de quedas e o tempo de permanência na barra giratória não foi alterado, como observado nas doses de 500 e 800 mg/kg aos 30 ($180,0 \pm 0,0$; $180,0 \pm 0,0$ s), 60 ($180,0 \pm 0,0$; $180,0 \pm 0,0$ s) e 120 ($180,0 \pm 0,0$; $180,0 \pm 0,0$ s) de observação quando comparados ao grupo controle ($180,0 \pm 0,0$; $180,0 \pm 0,0$; $180,0 \pm 0,0$ s), respectivamente. Portanto, neste experimento não houve diferença significativa entre os grupos experimentais e o grupo controle.

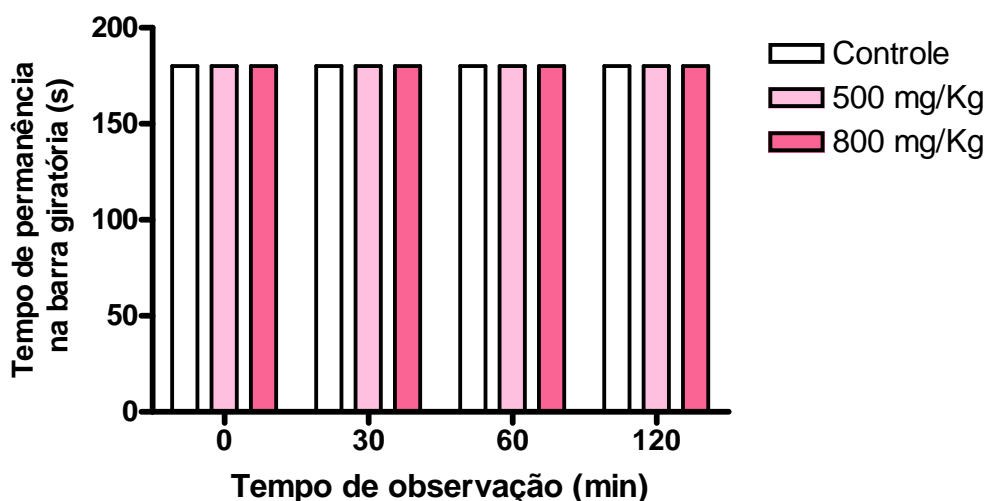


Gráfico 1. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.), sobre a coordenação motora de camundongos no teste do rota-rod. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=6). (Teste Mann-Whitney).

6.2.2. Teste do Campo Aberto

Os animais submetidos ao teste do campo aberto, apresentaram diminuição significativa na ambulação após tratamento prévio com o EEHc nas doses de 500 mg/kg ($38,5 \pm 4,2$) e 800 mg/kg ($44,5 \pm 3,0$) quando comparados ao controle ($82,7 \pm 5,3$) (gráfico 2).

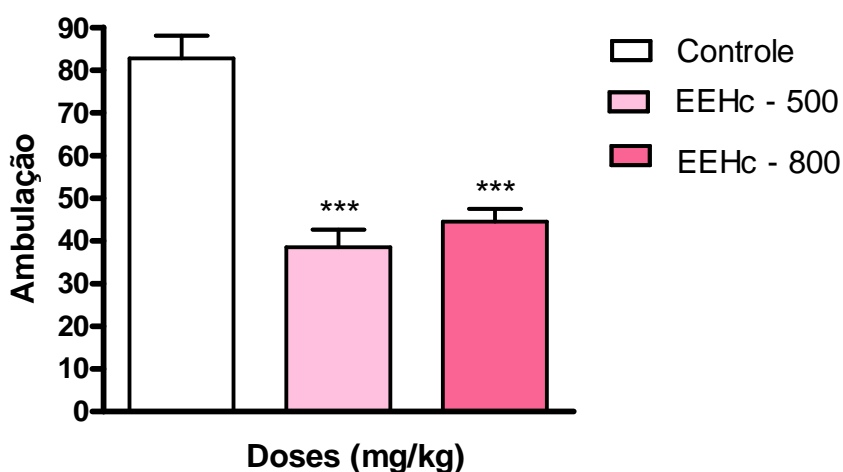


Gráfico 2. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) sobre a ambulação no teste do campo aberto em camundongos. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes).

De acordo com os resultados observados no gráfico 3, os animais tratados com 500 mg/kg ($4,0 \pm 0,6$) e 800 mg/kg ($2,6 \pm 1,0$) do EEHc não alteram a quantidade de vezes que os animais se limpam, quando comparados com os animais tratados com o controle ($2,2 \pm 0,8$).

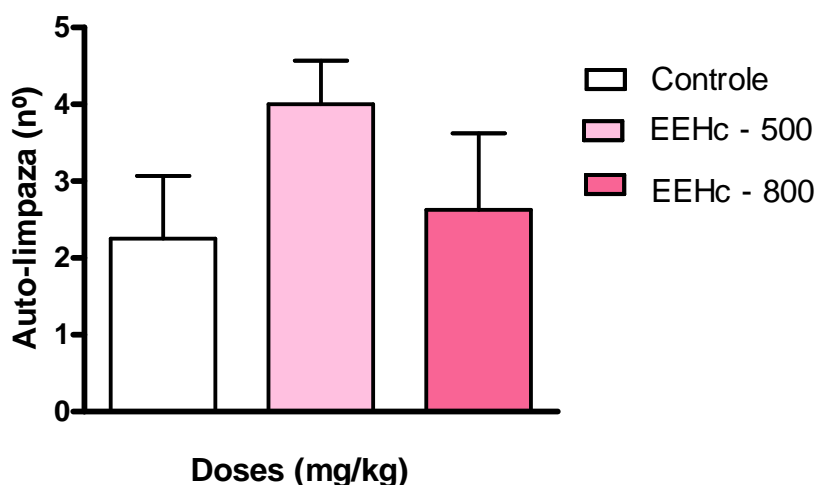


Gráfico 3. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) sobre a variação da limpeza no teste do campo aberto em camundongos. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). (Teste “t” de Student para amostras independentes).

No parâmetro exploratório de levantar, foi observado uma redução significativa no comportamento de levantar após administração do EEHc nas doses de 500 mg/kg ($10,1 \pm 3,5$) e 800 mg/kg ($15,0 \pm 1,5$), em relação aos camundongos tratados com o controle ($41,2 \pm 2,8$) (gráfico 4).

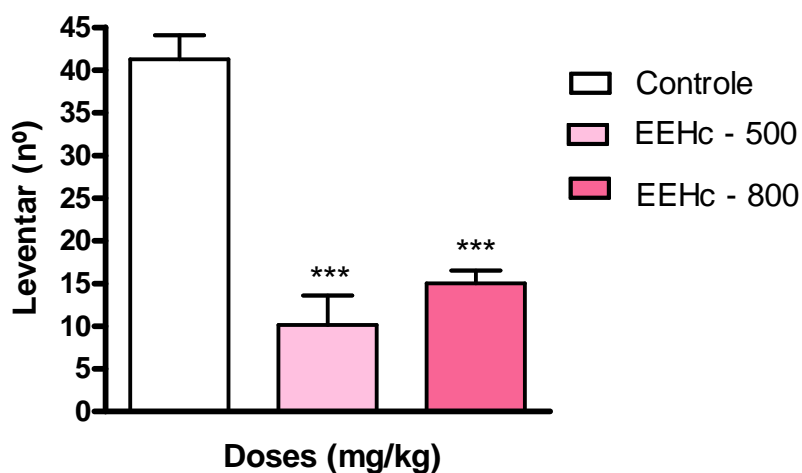


Gráfico 4. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) sobre o comportamento de levantar no teste do campo aberto em camundongos. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes).

A quantidade de bolos fecais dos animais dos grupos tratados com o EEHc nas doses de 500 mg/kg ($0,1 \pm 0,1$) e 800 mg/kg ($0,6 \pm 0,3$) reduziram de forma significativa em relação aos grupos que receberam o controle ($3,0 \pm 0,8$) (gráfico 5).



Gráfico 5. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) sobre a defecação no teste do campo aberto em camundongos. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). *P<0,05, **P<0,01 (Teste Mann-Whitney).

6.3. AVALIAÇÃO ESPECÍFICA DA ATIVIDADE SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL E PERIFÉRICO

6.3.1. Estudo da Atividade Ansiolítica

6.3.1.1. Teste do Labirinto em Cruz Elevado

Os resultados apresentados nos gráficos 7 e 8 demonstram que os animais tratados com o EEHc na doses de 500 mg/kg e 800 mg/kg não alteraram significativamente o número de entradas ($1,8 \pm 1,1$; $4,8 \pm 1,4$; respectivamente) (6A) e o tempo de permanência ($12,2 \pm 9,2$; $40,5 \pm 13,5$ s; respectivamente) nos braços abertos (6B) em relação ao grupo de animais que recebeu o controle (número de entradas, $3,7 \pm 0,9$ e tempo de permanência, $43,0 \pm 11,9$ s). O tratamento dos animais com as doses acima citadas (500 e 800 mg/kg) também não interferiu significativamente no número de entradas ($7,0 \pm 1,4$; $8,7 \pm 1,7$; respectivamente) (7A) e no tempo de permanência nos braços fechados ($220,7 \pm 14,1$; $176,7 \pm 30,4$ s; respectivamente) (7B), em comparação ao grupo o controle (número de entradas, $8,0 \pm 1,1$ e tempo de permanência, $177,8 \pm 19,6$ s).

O diazepam, na dose de 0,5 mg/kg, aumentou significativamente o número de entradas ($7,7 \pm 1,3$) e o tempo de permanência ($139,2 \pm 39,0$ s) nos braços abertos, enquanto que nos braços fechados, não ocorreu alteração significativa no número de entradas ($8,3 \pm 2,5$) e no tempo de permanência ($107,5 \pm 29,0$ s).

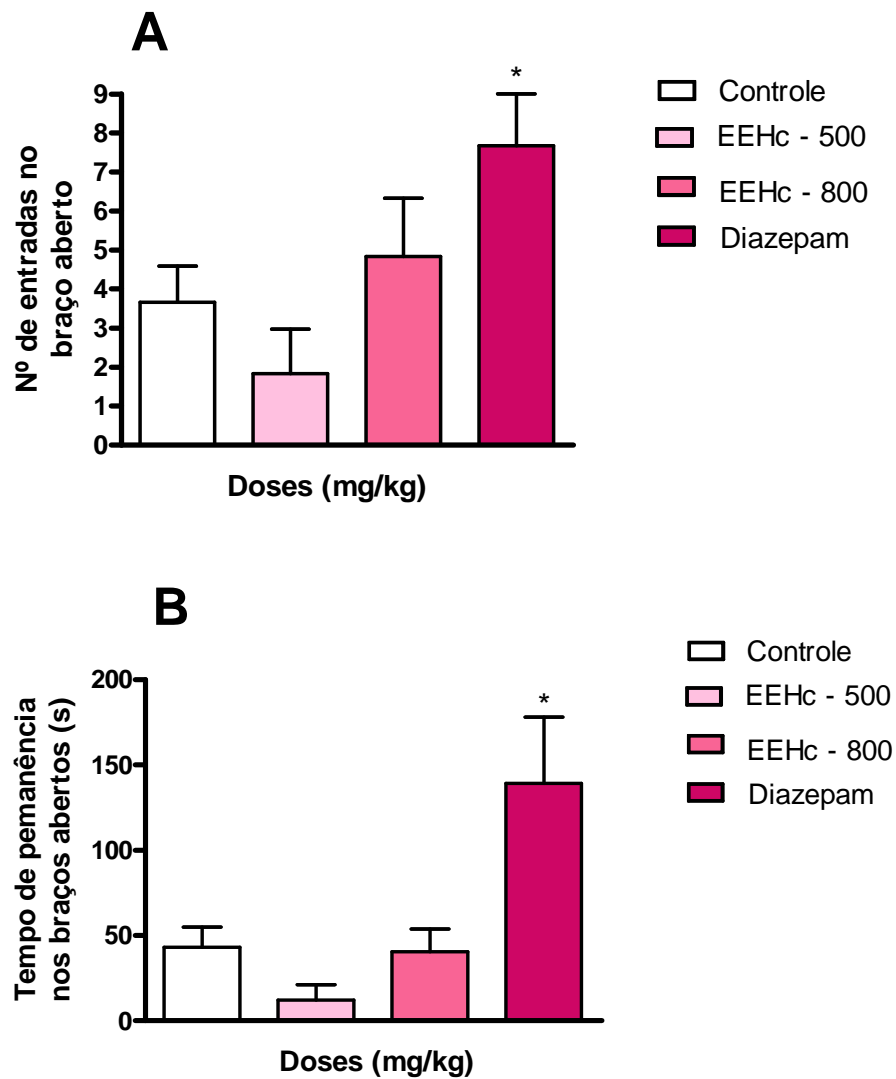


Gráfico 6. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.), em camundongos, no teste do labirinto em cruz elevado (braços abertos). (A) Número de entradas e (B) Tempo de permanência (s) Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=6). *P<0,05 (Teste "t" de Student para amostras independentes).

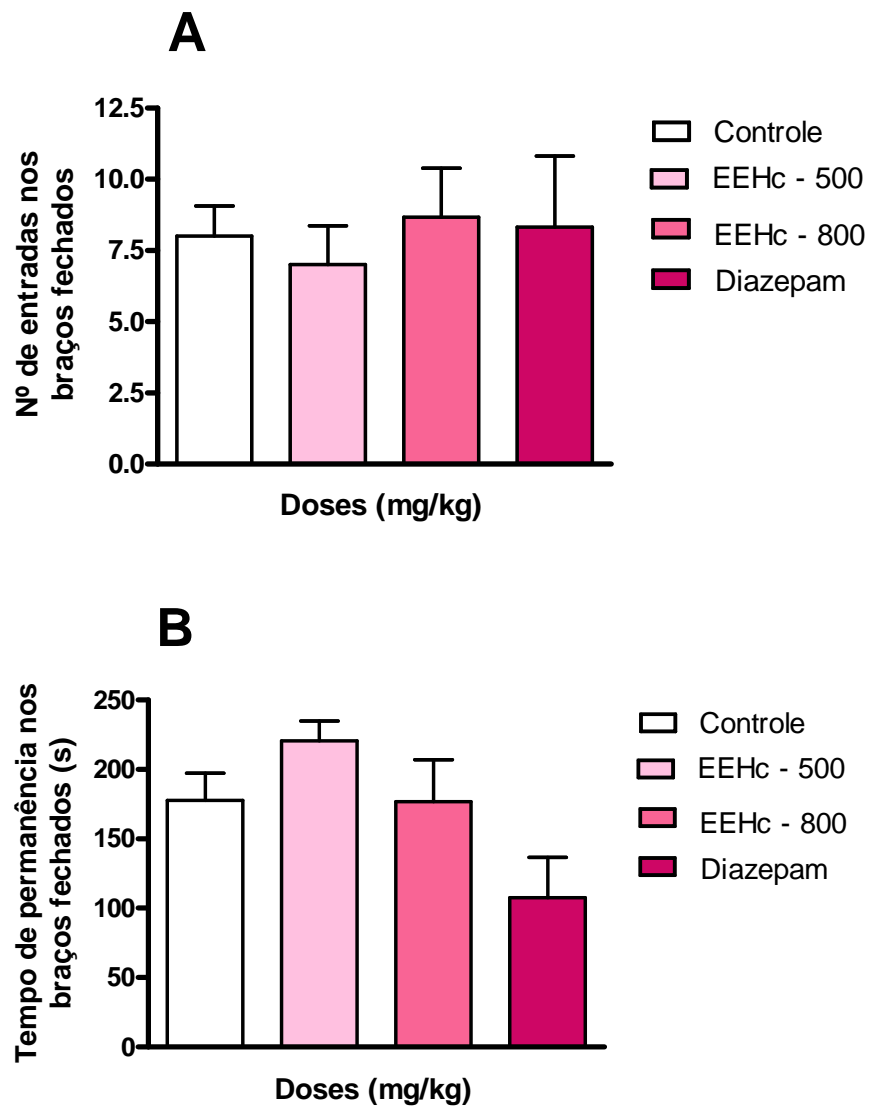


Gráfico 7. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.), em camundongos, no teste do labirinto em cruz elevado (braços fechados). (A) Número de entradas e (B) Tempo de permanência (s). Os valores estão expressos como a média ± e.p.m. (n=6). (Teste "t" de S Student para amostras independentes).

6.3.2. Estudo da Atividade Anticonvulsivante

6.3.2.1. Teste das Convulsões Induzidas pelo Eletrochoque Auricular

Neste teste, nenhuma das doses do EEHc administradas nos camundongos proporcionaram efeito protetor contra as convulsões induzidas pelo eletrochoque auricular. Portanto, 100% dos animais dos grupos tratados com as doses de 500 e 800 mg/kg do EEHc apresentaram convulsão tônica. Apesar do EEHc não proteger os animais contra as convulsões, não houve registro de mortes em todos os grupos testados (tabela 1).

Conforme ilustrado no gráfico 8, o EEHc nas doses de 500 mg/kg ($18,5 \pm 0,5$ s) e 800 mg/kg ($16,8 \pm 0,7$ s) não alterou a duração das convulsões em relação ao controle ($17,0 \pm 0,5$ s).

A fenitoína, usada como droga padrão, na dose de 25 mg/kg, protegeu os animais das convulsões em 83 % e da morte em 100%, apresentando uma diminuição na duração das convulsões de $0,8 \pm 0,8$ segundos.

Tabela 1. Percentual de ataques convulsivos tônicos e mortalidade observados nos camundongos tratados com veículo, com o EEHc e com fenitoína (padrão) durante o teste de convulsões induzidas por eletrochoque auricular.

<i>Grupo /dose mg/kg</i>	<i>% de animais que apresentaram convulsões tônicas</i>	<i>% mortes</i>
Controle	100,0	0,0
EEHc 500	100,0	0,0
EEHc 800	100,0	0,0
Fenitoína 25	16,7	0,0

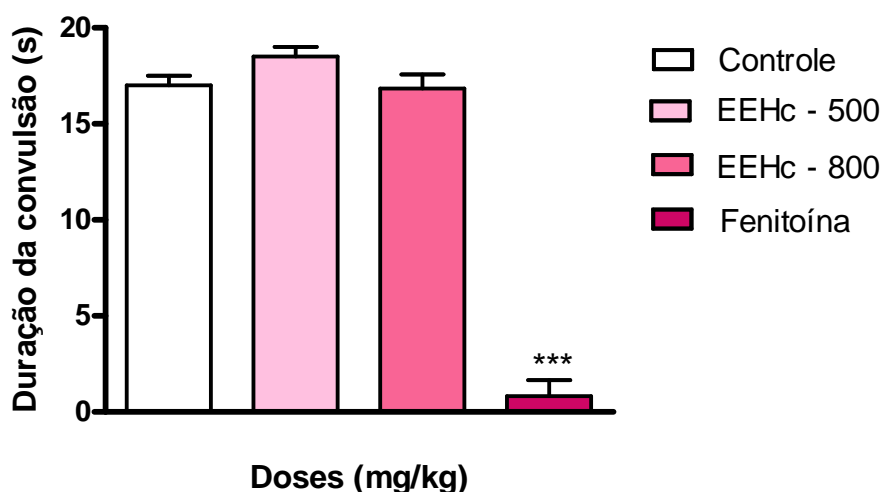


Gráfico 8. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.), na duração das convulsões induzidas pelo eletrochoque auricular máximo em camundongos. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=6). ***P < 0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes).

6.3.3. Estudo da Atividade Sedativa-Hipnótica

6.3.3.1. Teste de Potencialização do Tempo de Sono Induzido pelo Tiopental

Neste teste, os resultados mostraram que o EEHc foi efetivo em aumentar o tempo de recuperação do reflexo postural (tempo de sono) dos animais (gráfico 9). Com 500 e 800 mg/kg, observou-se um tempo total de sono em minutos de $53,4 \pm 11,0$ e $58,5 \pm 5,5$, respectivamente, sendo observado diferenças estatisticamente significativas com relação ao controle ($11,1 \pm 2,9$). No entanto, as doses testadas do EEHc não alteraram de forma significativa o tempo que os animais levaram para perder o reflexo do endireitamento (tabela 2). O diazepam na dose de 5 mg/kg foi capaz, como esperado, de aumentar o tempo de duração ($112,0 \pm 3,2$ min.) e reduzir o tempo de latência do sono ($1,7 \pm 0,6$ min.) induzido pelo tiopental.

Tabela 2. Tabela comparativa exibindo o efeito de EEHc e o diazepam sobre o tempo de latência do sono induzida pelo tiopental e o tempo de duração do sono em minutos.

<i>Grupo /dose mg/kg</i>	<i>Tempo de latência do sono (min)</i>	<i>Tempo de duração do sono (min)</i>
Controle	3,2 ± 0,3	11,1 ± 2,9
EEHc 500	2,3 ± 0,4	53,4 ± 11**
EEHc 800	2,5 ± 0,7	58,5 ± 5,5***
Diazepam 5	1,7 ± 0,6 **	112,0 ± 3,2 ***

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=8). **P< 0,01, *** P<0,001

6.3.4. Estudo da Atividade Antinociceptiva

6.3.4.1. Teste das Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético

De acordo com os resultados demonstrados no gráfico 9, todos os grupos tratados com EEHc apresentaram redução significativa do número de contorções abdominais nos camundongos, quando comparadas ao grupo que recebeu o veículo (12,0 ± 2,3). Desta forma, os animais que receberam a dose de 500 mg/kg apresentaram uma média de 0,3 ± 0,2 contorções e os que receberam 800 mg/kg, 2,2 ± 1,3; enquanto o grupo de animais que foram tratados com morfina na dose de 6 mg/kg não apresentou contorções abdominais.

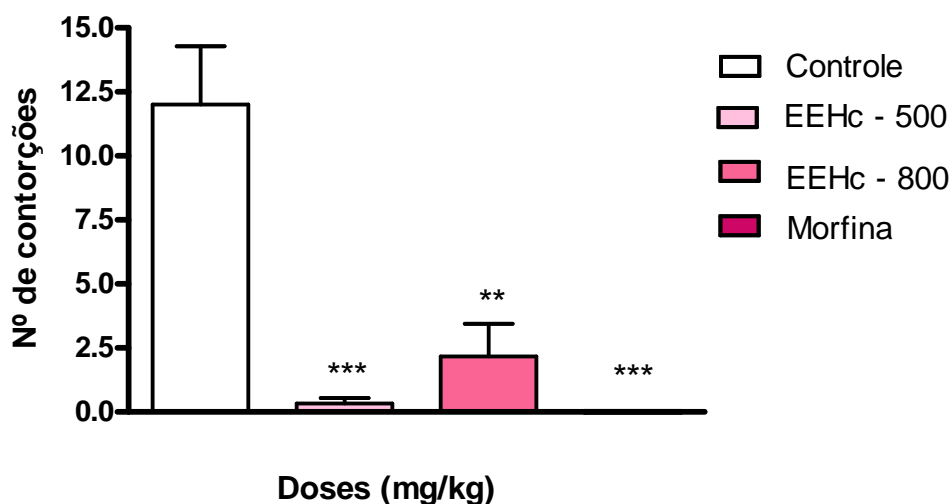


Gráfico 9. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina dose de 6 mg/kg, em camundongos, no número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). **P<0,01, ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes).

6.3.4.2. Teste da Placa Quente

Os resultados expressos no gráfico 10, revelam que nos primeiros 30 minutos após administração do EEHc nas doses de 500 mg/kg ($12,0 \pm 1,6$ s) e 800 mg/kg ($6,7 \pm 1,3$ s) não houve variação significativa na latência ao estímulo térmico quando comparados ao controle ($9,6 \pm 1,7$ s). Após 60 minutos, a dose de 500 mg/kg ($12,0 \pm 1,7$ s) aumentou significativamente a latência ao estímulo em relação ao controle ($6,3 \pm 0,9$), enquanto a dose de 800 mg/kg ($7,3 \pm 0,9$ s) não alterou o tempo de permanência dos animais na placa quente (gráfico 11). Após 120 minutos de tratamento, não ocorreu diferença significativa na latência entre os grupos testes e o controle, sendo suas médias $11,9 \pm 2,6$ s (500 mg/kg), $6,2 \pm 0,9$ s (800 mg/kg) e $9,3 \pm 2,0$ s (controle) (gráfico 12).

A morfina na dose de 10 mg/kg, usada como padrão neste teste, mostrou aumento significativo da latência ($12,5 \pm 0,8$ s) no tempo de 60 minutos após a administração da mesma. No entanto, a morfina não apresentou variação significativa na latência em relação ao controle nos tempos de 30 e 120 minutos após o tratamento ($13,4 \pm 2,6$ e $8,9 \pm 0,5$ s, respectivamente).

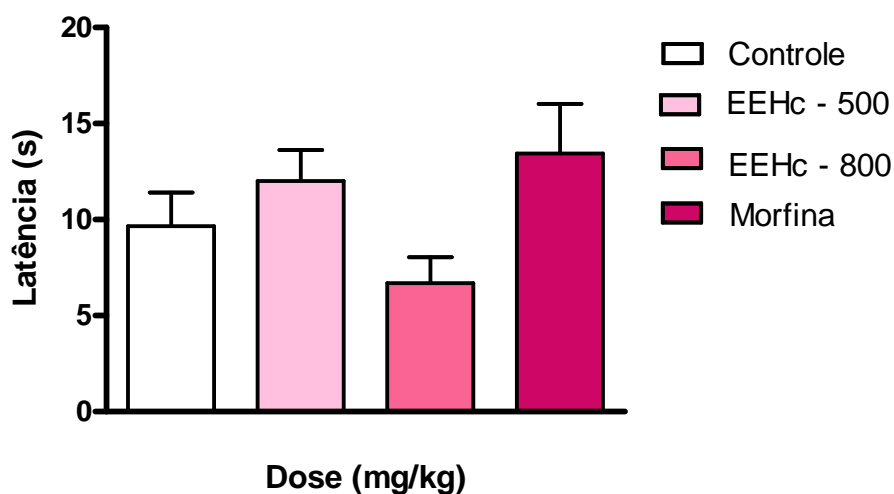


Gráfico 10. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, no teste da placa quente, 30 minutos após o tratamento dos animais. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). *P<0,05, ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes).

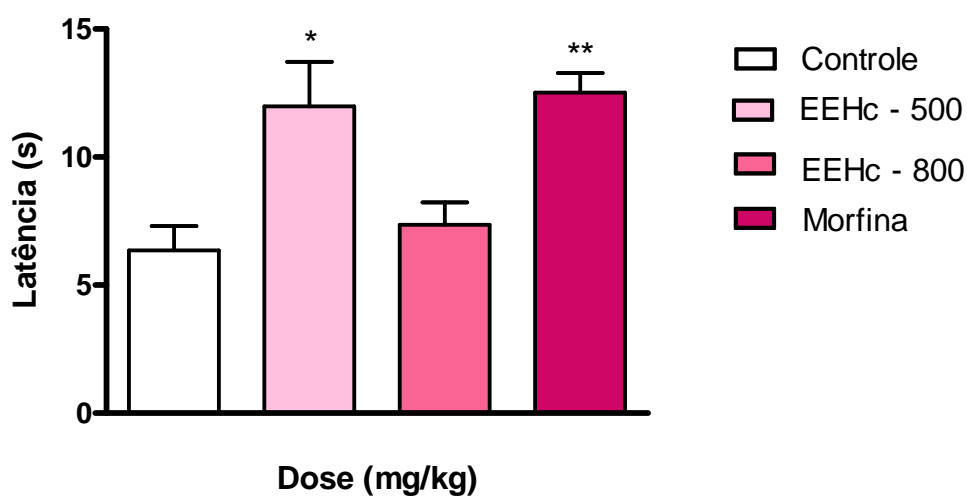


Gráfico 11. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, no teste da placa quente, 60 minutos após o tratamento dos animais. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). *P<0,05, ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes).

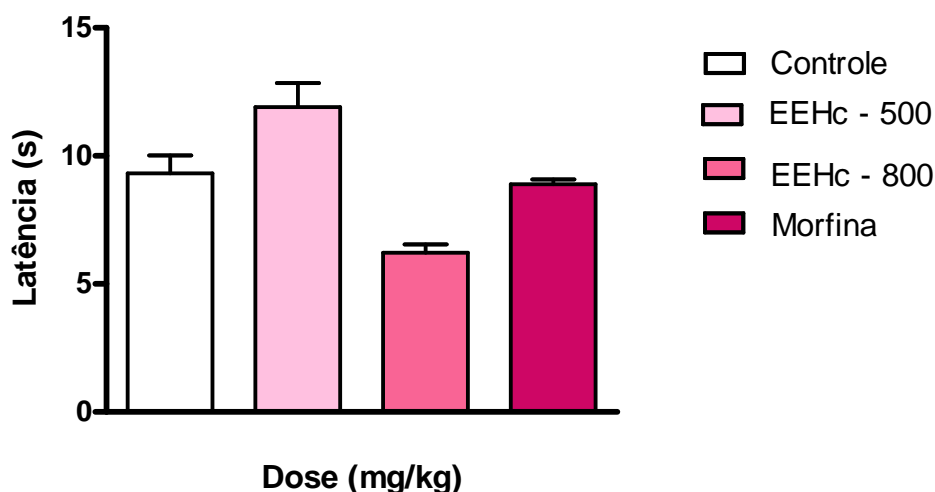


Gráfico 12. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, no teste da placa quente, 120 minutos após o tratamento dos animais. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). *P<0,05, ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes).

6.3.4.3. Teste da Formalina

Na primeira fase do teste, ocorrida nos cinco primeiros minutos após a injeção subplantar da solução de formalina, os camundongos tratados com o EEHc apresentaram diminuição no tempo de lambida da pata de forma significativa: 500 mg/kg ($59,0 \pm 4,8$ s) e 800 mg/kg ($54,2 \pm 8,3$ s), em relação ao grupo controle ($102,0 \pm 3,3$ s). O grupo padrão tratado com morfina na dose de 10 mg/kg também reduziu de forma significativa o tempo de lambida das patas ($33,0 \pm 4,3$ s), de acordo com os dados mostrados no gráfico 13.

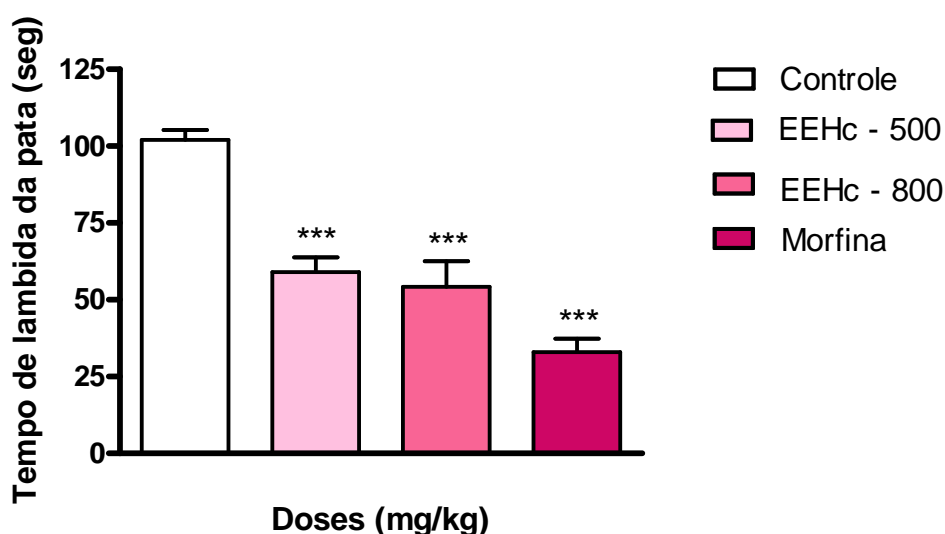


Gráfico 13. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, na primeira fase do teste da formalina. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes).

O tratamento dos animais com o EEHc na dose de 500mg/kg ($173,3 \pm 50,9$ s) não diminuiu significativamente o tempo de lambida da pata na segunda fase do teste da formalina quando comparada ao controle ($226,5 \pm 24,1$ s). No entanto, a dose de 800 mg/kg ($32,4 \pm 21,15$ s) do EEHc reduziu significativamente o tempo de lambida da pata, de forma semelhante ao resultado apresentado pelo grupo tratado com a morfina ($42,7 \pm 24,5$ s), em relação ao controle (gráfico 14).

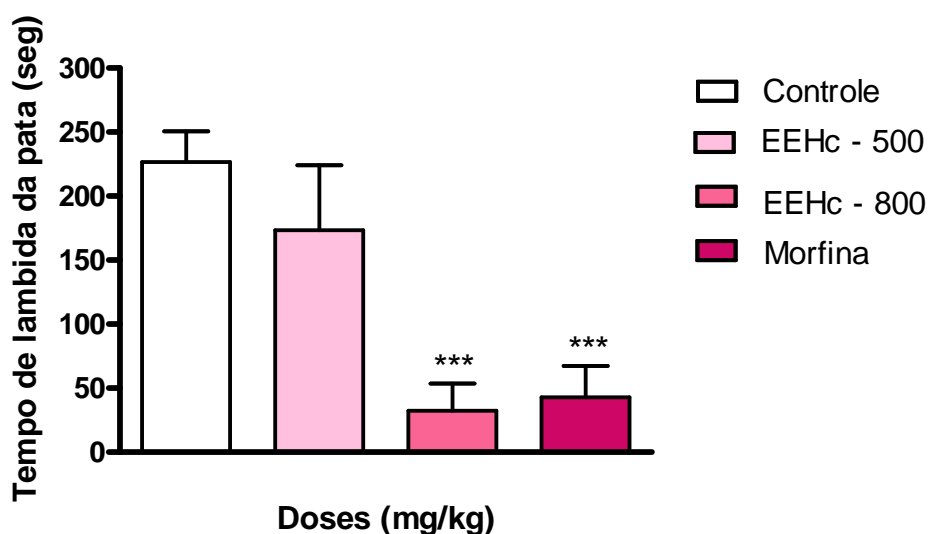


Gráfico 14. Efeito de EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, na segunda fase do teste da formalina. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes).

6.4. AVALIAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA OPIÓIDE NO MECANISMO DE AÇÃO

6.4.1. Teste da Formalina após Tratamento com Antagonista Opióide

Na primeira fase do teste da formalina, os camundongos pré-tratados com naloxona, antagonista de receptores opióides, e em seguida com o EEHc na dose de 800 mg/kg ($34,5 \pm 13,7$ s) apresentaram menor tempo de lambida em relação ao grupo controle ($102,0 \pm 3,3$ s), não havendo, portanto, bloqueio dos seus efeitos nociceptivos (gráfico 15).

O grupo padrão tratado com morfina na dose de 10 mg/kg, após administração da naloxona, não apresentou diminuição ($89,1 \pm 7,5$ s) significativa do tempo de lambida da pata, uma vez que esta droga atua através de receptores opióides.

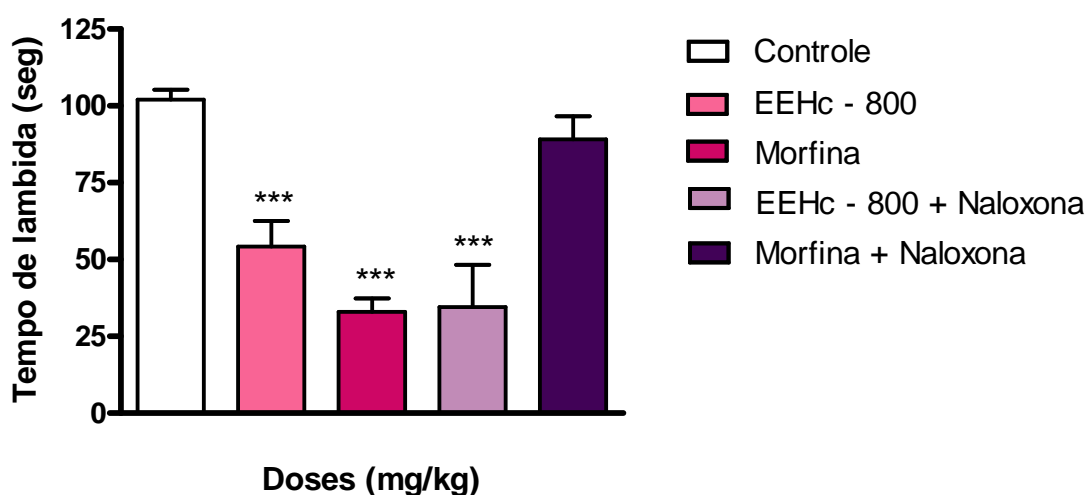


Gráfico 15. Efeito de EEHc na dose de 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, na primeira fase do teste da formalina após pré-tratamento com naloxona na dose de 6 mg/kg. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste "t" de Student para amostras independentes).

De acordo com os resultados expostos no gráfico 16, o EEHc na dose de 800 mg/kg promoveu a redução do tempo de lambida da pata na segunda fase do teste, quando comparado ao controle ($226,5 \pm 29,1$ s), apresentando uma média de $8,8 \pm 8,8$ s, mantendo seus efeitos nociceptivos de forma semelhante aos resultados obtidos por essa dose do EEHc sem o tratamento com naloxona.

Não houve redução significativa do tempo de lambida entre o grupo tratado e o da morfina ($150,1 \pm 34,8$ s) nesta fase do teste.

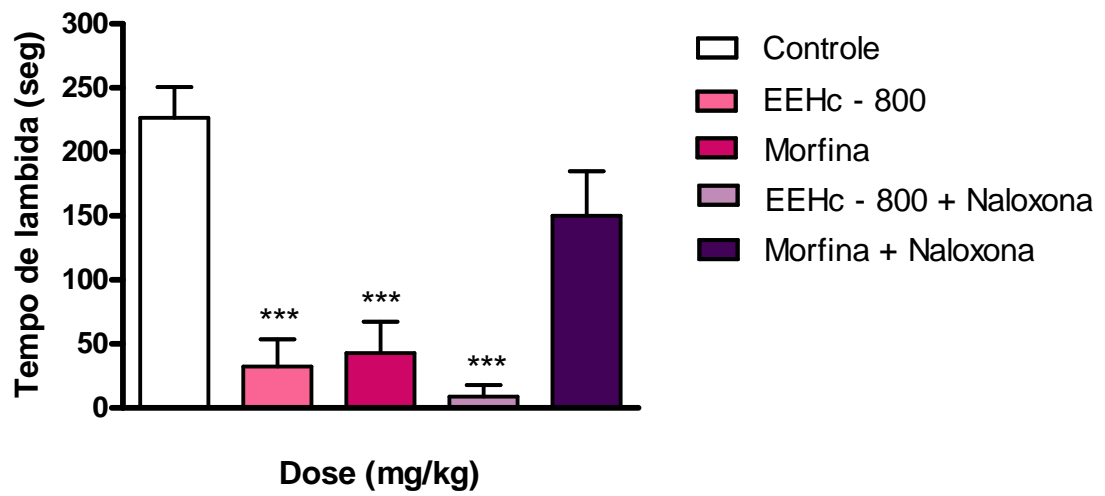


Gráfico 16. Efeito de EEHc na dose de 800 mg/kg (i.p.) e morfina na dose de 10 mg/kg, na segunda fase do teste da formalina após pré-tratamento com naloxona na dose de 6 mg/kg. Os valores estão expressos como a média \pm e.p.m. (n=8). ***P<0,001 (Teste “t” de Student para amostras independentes).

Discussão

7. DISCUSSÃO

A investigação de plantas medicinais a partir das informações fornecidas pela medicina popular e fitoterapia tem ganhado espaço na pesquisa científica, com o objetivo de desenvolver novas drogas efetivas que não apresentem efeitos tóxicos ou possuam baixa toxicidade (TAYLOR et. al., 2001). Apesar da espécie *H. crispera* não possuir indicação popular, com exceção do seu uso em infecções do trato respiratório, ela foi selecionada para o estudo por ser uma planta da qual foram isolados alguns flavonóides com atividade comprovada (COSTA, 2006), como também, pela apresentação de metabólitos biologicamente ativos por parte de alguns membros de sua família, tais como triterpenos (AHMED; KAZMI; MALIK, 1990), flavonóides (SILVA et al., 2005a, 2005b), óleos essenciais (AMES; MACLEOD, 1990), lactonas sesquiterpênicas (SHARMA; AHMAD, 1989) e ácidos graxos (CARMODY; DEJONG; SMITH, 1945; VICKERY, 1980; SCHIMID; PATTERSON, 1988; NAKATANI; FUKUNAGA; HASE, 1986)

Os estudos farmacológicos com o extrato etanólico de *H. crispera* (EEHc) no SNC compreenderam inicialmente a avaliação dos efeitos tóxicos, através da triagem farmacológica comportamental preliminar, e da determinação da DL₅₀. Em seguida, foram realizados testes gerais e específicos voltados para a avaliação da atividade ansiolítica, anticonvulsivante, sedativa-hipnótica e antinociceptiva, com ênfase nesta última atividade.

Na triagem comportamental realizada com o EEHc com doses até 2000 mg/kg, administradas pela via i.p., houve pouca alteração nos parâmetros observados, e não foram verificados sinais tóxicos e nem morte dos animais nas 72 horas após o tratamento com o extrato em estudo.

Durante as primeiras quatro horas de observação do comportamento dos animais constatou-se apenas a presença de um pequeno grau de ptose palpebral e uma leve redução na ambulação. A ambulação diminuída em camundongos é talvez o sinal mais comum apresentado por animais que receberam a administração de uma substância que possui efeito depressor do SNC, porém, é muito precoce classificar uma droga como depressora, utilizando apenas esse parâmetro para classificar uma droga. Já a ocorrência de ptose palpebral é descrita em algumas classes de drogas depressoras como os neurolépticos e os analgésicos de ação central (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006a).

A amostra vegetal nas doses e condições avaliadas não resultou em mortes dos animais testados. Este fato impossibilitou a determinação da DL₅₀. Segundo Souza Brito

(1994), a dose utilizada para extratos brutos em triagens farmacológicas não devem ultrapassar 1000 mg/kg. Dessa forma, o EEHc passou a ser investigado quanto à sua atividade psicofarmacológica utilizando as doses de 500 e 800mg/kg, administradas por via i.p., escolhidas por que os efeitos deprimidos observados foram bem visíveis nas doses de 500 e 1000 mg/kg, administradas pela via i.p.

A triagem farmacológica preliminar é uma metodologia simples, mas que possibilita a detecção de efeito central apresentado pela substância analisada. Portanto, foram realizados outros dois testes gerais para melhor caracterização do perfil psicofarmacológico do EEHc, a saber: o teste da barra giratória rota-rod e o teste do campo aberto.

O teste do rota-rod avalia o efeito de relaxamento muscular ou de incoordenação motora provocado pelas drogas. Quanto mais intenso for o efeito, menor será o tempo em que o animal consegue se equilibrar sobre a barra giratória (CARLINI; BURGOS, 1979; MATTEI; FRANÇA, 2006). Trata-se de um método não-específico, sendo utilizado para descartar a possibilidade de resultados falso-positivos, uma vez que avalia a integridade do sistema motor, permitindo detectar o enfraquecimento neurológico, incluindo ataxia, sedação ou relaxamento muscular, efeitos característicos da neurotoxicidade (DUNHAM; MIYA, 1957; MATTEI; FRANÇA, 2006; PULTRINI; GALINDO; COSTA, 2006).

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; DE SOUSA et al., 2007). Os animais tratados com o EEHc não apresentaram alterações significativas no tempo de permanência na barra giratória quando comparados ao grupo tratado com o veículo, não interferindo com a coordenação motora dos animais (gráfico 1). Descartando-se, assim, a possibilidade de um efeito miorelaxante ou neurotóxico.

Em seguida, realizamos o teste do campo aberto. Este teste é apropriado para medir não apenas comportamento de ansiedade, mas também sedação ou atividade exploratória do animal (PRUT; BELZUNG, 2003). Neste teste, foram observados os seguintes parâmetros: ambulação, número de comportamentos de levantar, o número de comportamentos de autolimpeza e defecação (número de bolos fecais).

A ambulação em um novo ambiente representa a atividade locomotora do animal. O número total de cruzamentos avalia a atividade exploratória do animal, que pode ser

afetada por fármacos com ação no SNC ou relaxantes musculares periféricos. Neste parâmetro, o EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg reduziu significativamente a ambulação dos animais tratados (gráfico 2). Segundo Masur, Martz e Carlini (1971), a mobilidade é função do grau de excitabilidade do SNC e uma diminuição desse parâmetro é sugestiva de uma atividade sedativa (OZTURK et al., 1996; FRANCO et al., 2005). Caso a ambulação estivesse aumentada, poderíamos correlacionar o efeito do EEHc com um efeito ansiolítico.

O comportamento de autolimpeza é um índice de adaptação comportamental a uma situação de estresse. Em situações de medo ou ansiedade, esse comportamento geralmente aumenta (SHAW et al., 2007) com a finalidade de reduzir a excitação após a situação estressante, contribuindo para a manutenção da homeostase (DELLIUS, 1967; COLBERN et al., 1978;; JOLLES; ROMPA-BARENDREGT; GISPEN, 1979). O EEHc não alterou, de forma significativa, este comportamento em nenhuma das doses testadas em relação ao controle (gráfico 3). Este fato corrobora com a possível correlação de que o EEHc não apresenta uma atividade ansiolítica.

A quantidade de levantar, que corresponde ao número de vezes que o animal eleva as patas dianteiras ficando apoiado apenas sob suas patas posteriores, é um aspecto de comportamento exploratório e geralmente diminui quando um animal é colocado em um ambiente novo ou estressante, podendo aumentar quando o animal está sob efeito de drogas ansiolíticas (JOHANSSON; AHLENIUS, 1989; SHAW et al., 2007). Tal como o resultado observado na ambulação, o EEHc provocou uma diminuição significativa no número de vezes que os animais levantaram, nas doses de 500 e 800 mg/kg (gráfico 4). Vale ressaltar que a inibição de ambos, ambulação e número de levantar, estão relacionadas às drogas que possuem ação sedativa (PRUT; BELZUNG, 2003; HUANG et al., 2007), e tais efeitos foram observados em nossos testes.

A defecação foi reduzida significativamente nos animais que receberam as doses de 500 e 800 mg/kg do EEHc, quando comparados ao grupo controle (gráfico 5). A defecação também é um bom indicador de emocionalidade dos animais, pois estudos mostram que a alta emocionalidade está relacionada com o aumento da defecação, enquanto que drogas ansiolíticas reduzem a defecação (ANGRINI; LESLIE; SHEPHARD, 1998; SHAW et al., 2007).

De acordo com os resultados até aqui apresentados, da triagem farmacológica comportamental e do teste do campo aberto, há evidências de que o EEHc apresenta efeitos farmacológicos no SNC. Podemos sugerir uma possível atividade sedativa do EEHc

observada no teste do campo aberto, no qual apenas o parâmetro da autolimpeza não foi alterado.

A fim de elucidar a que classe de psicotrópicos o EEHc pertence, partimos para uma avaliação específica da sua atividade central. Drogas que reduzem a atividade do SNC são do grupo dos psicolépticos e, dentre eles, podemos citar algumas classes como os ansiolíticos, anticonvulsivantes, sedativo-hipnóticos e antinociceptivos.

Iniciamos a verificação das atividades específicas do EEHc com os testes de avaliação da atividade ansiolítica, utilizando o modelo animal do labirinto em cruz elevado.

A maioria dos modelos experimentais para avaliar o comportamento de ansiedade, utilizando animais de laboratório, baseia-se, principalmente, em situações conflitantes, como colocar animais em um ambiente estranho (“estressante”) ou em frente a um predador, o que pode gerar algumas alterações comportamentais, acompanhadas de alterações fisiológicas. Assim, o que se reproduz nos animais é um estado semelhante à ansiedade no homem, medida através de sinais exteriores, tais como a atividade exploratória e locomotora reduzida (BLANCHARD et al., 1993; LEITE; SIQUEIRA, 2006).

O teste do labirinto em cruz elevado é um dos modelos animais mais usados, sendo considerado um modelo etiologicamente válido, uma vez que usa um estímulo natural – medo de um espaço novo aberto e medo do equilíbrio numa plataforma suspensa relativamente estreita – que pode induzir ansiedade em humanos (DAWSON; TRICKLEBANK, 1995; GRUNDMANN et al., 2007). Este teste consiste num dos métodos mais extensivamente validados para a triagem de drogas com efeito ansiolítico (ZANOLI et al., 2007), e baseia-se no fato de que os roedores evitam se expor às áreas abertas no labirinto, as quais se supõem serem mais aversivas, mostrando uma preferência pelas áreas fechadas protegidas por paredes (WEISS et al., 1998; CHEN et al., 2006). Por isso ele é utilizado para investigar os efeitos ansiolíticos ou ansiogênicos das substâncias, uma vez que substâncias ansiolíticas levam o animal a aumentar o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, e as substâncias ansiogênicas induzem um aumento dos referidos parâmetros nos braços fechados (LISTER, 1987; PELLOW et al., 1985; GRUNDMANN et al., 2007).

Neste teste, não ocorreu nenhuma alteração significativa no comportamento dos animais decorrente da administração do EEHc nas doses de 500 e 800 mg/kg, ou seja, não houve alterações no número de entradas e no tempo de permanência dos camundongos nos

braços abertos e fechados (gráfico 6 e 7), descartando a hipótese de um possível efeito ansiolítico.

Na realização deste teste, utilizamos o diazepam como droga padrão de efeito ansiolítico. Os animais tratados com o diazepam aumentaram significativamente o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, enquanto que nos braços fechados não foram observadas mudanças significativas nos dois parâmetros avaliados. Portanto, o teste do labirinto em cruz elevado apresentou resultados que não correlaciona o EEHc ao perfil de uma droga ansiolítica.

A avaliação da atividade anticonvulsivante do EEHc foi realizado através do teste das convulsões induzidas pelo eletrochoque auricular. É um modelo muito utilizado na identificação de drogas anticonvulsivantes indicadas no tratamento das crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas ou “grande mal epilético” (LÖSCHER; 1998; OLIVEIRA et al, 2001).

Este teste baseia-se na observação de que a estimulação, por meio de pulsos elétricos repetitivos e usando parâmetros adequados, é capaz de induzir um padrão característico de atividade epilética em diferentes estruturas neuronais que, auto mantida, é comumente denominada como pós-descarga (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2002). O teste do eletrochoque identifica agentes ativos contra convulsões tônico-clônicas generalizadas, devido ao bloqueio da propagação das convulsões (LOSCHER; SCHMIDT, 1988; BLANCO et al., 2007).

A fenitoína foi a droga padrão de escolha, sendo altamente eficaz em reduzir a intensidade e a duração das convulsões induzidas eletricamente em camundongos. Ela atua bloqueando a excitabilidade da membrana, por uma ação sobre os canais de sódio dependentes de voltagem (RANG et al., 2007).

Os resultados obtidos neste teste evidenciaram que nenhuma das doses do EEHc administradas nos camundongos proporcionaram efeito protetor contra as convulsões induzidas pelo eletrochoque auricular, uma vez que todos os animais tratados com o EEHc apresentaram convulsões tônicas e o tempo de duração destas foi semelhante ao tempo de convulsão observadas no grupo controle que recebeu apenas o veículo. Não houve morte dos animais que receberam o EEHc ou o veículo (gráfico 8 e tabela 1). Portanto, o EEHc não exerce efeito de forma semelhante ao de drogas anticonvulsivantes utilizadas para o tratamento de crises epiléticas. Em nossos resultados, apenas 16,7% dos animais tratados com fenitoína apresentaram convulsões, apresentando uma diminuição significativa na

duração das convulsões. Nenhum dos animais tratados com fenitoína morreu, o foi observado também nos animais dos grupos experimentais e controle.

Para avaliação da atividade sedativa-hipnótica, realizamos o teste da potencialização do tempo de sono induzido pelo tiopental com o objetivo de investigar se o EEHc tem ação neuro-sedativa, ou ainda se possui perfil de droga hipnótica (SANTOS; RAO; SILVEIRA, 1996), já que é bem estabelecido que a potencialização do tempo de sono dos animais é devido a uma ação sedativa-hipnótica atribuída ao envolvimento de mecanismo centrais na regulação do sono e modulação do sistema GABAérgico (N'GOUEMO; NQUEMBY-BINA; BALDY-MOULINIER, 1994; STEINBACH; AKK, 2001; SIVAM; NABESHIMA; HO, 2004; AGUIRRE-HERNÁNDEZ et al., 2007; SARKER et al., 2007).

O tiopental é um fármaco sedativo-hipnótico da classe dos barbitúricos, que atua como agonista dos receptores GABA_A e também aumentam as respostas dos receptores GABA. Estes fármacos aumentam o tempo de abertura dos receptores GABA que são canais de cloreto (Cl⁻), permitindo, assim, influxo maior desses íons, resultando em uma hiperpolarização celular e inibição da transmissão nervosa. A transmissão GABAérgica intensificada pelos barbitúricos no tronco encefálico causa sedação, amnésia e perda da consciência (KATZUNG, 2003; FORMAN et al.; 2009).

Neste teste, observou-se que o EEHc, nas doses de 500 e 800 mg/kg, foi capaz de promover significativamente a potencialização do tempo de sono dos animais, ou seja, aumentou o tempo de sono induzido pelo barbitúrico. No entanto, não alterou de forma significativa o tempo que os animais levaram para perder o reflexo do endireitamento (latência do sono) (tabela 2). Esse achado é similar aos observados por Fujimori (1995), que propôs que o aumento no tempo de hipnose é um indício útil de atividade depressora no SNC. Estes dados sugerem que o EEHc possui uma ação depressora do SNC possivelmente hipnótica, uma vez que, geralmente, drogas depressoras do SNC reduzem a latência para adormecer e/ou aumentam a duração do tempo de sono (NEVES et al., 2007).

O diazepam foi utilizado como droga padrão neste experimento e, como esperado, aumentou o tempo de duração e reduziu o tempo de latência do sono induzido pelo tiopental.

Finalmente, foi realizada a avaliação da possível atividade antinociceptiva do EEHC. Os modelos de escolha foram o teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, que produz estímulo nociceptivo químico em nível periférico; o teste da

placa quente, que utiliza a temperatura como agente nociceptivo físico e permite investigar a atividade central (ZHANG et al., 2009; OLIVEIRA; 2009); e o teste da formalina, um modelo animal com estimulação de nociceptores que resulta em um modelo bifásico de comportamentos indicativos de dor (YANO et al, 2006).

A morfina, analgésico de ação central, protótipo da classe dos opióides, foi o fármaco utilizado como padrão nos testes realizados para verificação da atividade antinociceptiva (ALMEIDA; BARBOSA-FILHO, 2006). Os agonistas de receptores opióides constituem a principal classe de fármacos utilizada no controle agudo da dor moderada a intensa, e os locais de ação analgésica compreendem o SNC e as terminações periféricas aferentes primárias (GRIFFIN; WOOLF, 2009).

Dentre os modelos de nocicepção utilizados neste trabalho, o teste das contorções abdominais induzidas pelo o ácido acético é um modelo simples, rápido e confiável para avaliar a atividade antinociceptiva das substâncias (SHINDE et al., 1999). Embora não seja um método de antinocicepção específico, ele é importante porque é um método preliminar de triagem, mostrando o efeito de antinocicepção geral (COLLIER *et al.*, 1968). Este teste é caracterizado por ser uma metodologia de alta sensibilidade, sendo sensível a drogas centrais e periféricas (VAZ et al., 1996; VOGEL; VOGEL, 1997; RAMEZANI; HOSSINZADEH; DANESHMAND, 2001) e também a várias drogas analgésicas e antiinflamatórias não-esteroidais, e semelhantes à morfina e outros analgésicos que atuam centralmente (KOSTER et al., 1959; BLANE, 1967; BLUMBERG; WOLF; DAYTON, 1965).

O ácido acético, na concentração usada, induz a dor indireta que ocorre em consequência de uma inflamação aguda no peritônio (IKEDA et al, 2001). A inflamação ocasiona a liberação de prostaglandinas, o suficiente para provocar espasmos traduzidos em contorção (LAPA et al., 2003; CUNHA et al., 2003; MIRANDA et al., 2001). Acredita-se que o ácido acético atua indiretamente causando a liberação de mediadores endógenos envolvidos na modulação da nocicepção, incluindo a bradicinina, serotonina, histamina e prostaglandinas (WHITE, 1964; LEI GUO, 2008).

A resposta nociceptiva 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 cicloxigenase, com consequente biossíntese de prostaglandinas (DUARTE; NAKAMURA; FERREIRA, 1988; FRANZOTTI et al., 2000). Além disso, a nocicepção induzida pelo ácido acético

depende da liberação de citocinas como IL-1 β , TNF- α e a IL-8, a partir de macrófagos e basófilos residentes na cavidade abdominal e, em conjunto com outros mediadores, podem induzir a nocicepção característica observada nesse modelo (RIBEIRO et al, 2000; BASTOS et al., 2006).

Os resultados obtidos neste experimento demonstraram que o EEHc reduziu o número de contorções abdominais apresentadas pelos animais, de forma ainda mais acentuada na dose de 500 mg/kg do que na dose de 800 mg/kg em relação ao controle (gráfico 9), indicando que este efeito não é dose-dependente. Estes resultados sugerem que o EEHc apresenta atividade antinociceptiva e/ou estaria inibindo a liberação de mediadores inflamatórios ou citocinas. A morfina impediu o aparecimento de contorções abdominais nos animais, como esperado.

Em seguida, realizamos o teste da placa quente, para melhor especificar a atividade antinociceptiva do EEHc observada no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético, visto que este trata-se de um teste sensível a drogas de ação central e periférica.

O teste de placa quente é utilizado para avaliar a atividade analgésica mediada por mecanismos centrais, pois o calor é freqüentemente utilizado como um estímulo nódico, em modelos de dor aguda (ANTONIOLLI; VILLAR, 2003). Este teste é uma metodologia reconhecida por ser sensível a drogas que atuam em nível supraespinhal (CAMPOS et al., 2002; FRANÇA et al., 2001; PEANA et al., 2003). É um modelo animal que avalia a atividade antinociceptiva de fármacos opióides, mas outras drogas com atividade central, tais como sedativas e hipnóticas, também apresentaram atividade no modelo da placa quente (HIRUMA-LIMA et al., 2000).

Nesse modelo de nocicepção, a atividade antinociceptiva do EEHc foi observada apenas 60 minutos pós-tratamento, no grupo de animais que receberam a dose de 500 mg/kg. A dose de 800 mg/kg não modificou significativamente a latência ao estímulo térmico nos três períodos de tempo observados (30, 60 e 120 min.) após o tratamento dos animais, quando comparados ao grupo controle (gráficos 10, 11 e 12). Novamente, observa-se um efeito que não é dose dependente, uma vez que a dose de 500 mg/kg promoveu aumento na latência e a de 800 mg/kg não promoveu nenhum efeito antinociceptivo. A morfina aumentou o tempo de latência, no qual animal lambia a pata ou saltava, somente no período de 60 minutos após sua administração.

Este teste não foi suficiente para afirmar ou descartar a hipótese de que o EEHc possui atividade antinociceptiva de ação central, uma vez que, apenas a dose de 500 mg/kg

foi eficaz em aumentar a latência ao estímulo térmico após 60 minutos da sua administração nos camundongos. Porém, era esperado que a morfina aumentasse o tempo de latência nos três períodos de tempo observados por ser um fármaco de ação central, no entanto, isto ocorreu apenas aos 60 minutos pós-tratamento.

Na tentativa de esclarecer sobre a atividade antinociceptiva do EEHc, realizamos em seguida o teste da formalina. 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).

O teste de formalina talvez seja o modelo de dor clínica mais utilizado, no qual a primeira fase parece ser resultante da estimulação química direta dos nociceptores, enquanto a segunda fase é dependente da inflamação periférica e modificações no processamento central (TJOLSEN et al, 1992, CAPONE; ALOISI, 2004).

O teste da formalina permite evidenciar duas fases de sensibilidade dolorosa: a primeira fase que ocorre durante os primeiros cinco minutos após a injeção da formalina e resulta de estímulo químico direto de fibras aferentes nociceptivas mielinizadas e não mielinizadas, sobretudo a fibra C, sendo sensível principalmente a drogas que agem em nível central, como a morfina (HUNSKAAR; FASMAR; HOLE, 1985, FERREIRA et al., 2006, AMARAL et al. 2007; GONÇALVES et al. 2008). Resultados experimentais demonstram que a substância P e a bradicinina participam da primeira fase (VANEGAS; SCHAIBLE, 2004).

A segunda fase ocorre entre 15 a 30 minutos após a formalina. Mediadores inflamatórios formados nos tecidos periféricos, como as prostaglandinas, serotonina, histamina e bradicinina, induzem mudanças funcionais nos neurônios do corno dorsal que, ao longo do tempo, promovem a facilitação da transmissão em nível espinhal. Esta evidência sugere que o processo de inflamação periférica está envolvido na segunda fase (HUNSKAAR; FASMAR; HOLE, 1985; FRANÇA et al, 2001; OLIVEIRA; SOUZA; ALMEIDA, 2008).

Entre a primeira e a 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 de receptores tipo A inibem a diminuição de manifestações de dor durante esse período (HENRY et al., 1999; LIRA, 2001).

Drogas de ação central, tais como os analgésicos opióides inibem ambas as fases do teste da formalina, entretanto, drogas de ação periférica, como os anti-inflamatórios somente são eficazes na segunda fase (SHIBATA et al., 1989; MIÑO et al., 2002).

O tratamento dos animais com o EEHc reduziu de forma significativa o tempo de lambida da pata na primeira fase do teste, tanto na dose de 500 mg/kg como na dose de 800mg/kg, de forma semelhante aos animais tratados com morfina em relação aos animais do grupo controle (gráfico 13). Na segunda fase do teste, a dose de 500 mg/kg não apresentou atividade antinociceptiva, porém a dose de 800 mg/kg apresentou efeito antinociceptivo semelhante ao da morfina (gráfico 14). Portanto, os resultados sugerem que a atividade antinociceptiva do EEHc apresente um componente central, visto que, o efeito antinociceptivo foi observado nas duas fase do experimento. Podemos ressaltar ainda que, neste resultado, o efeito foi dose dependente, o que até então não tinha sido observado.

Para detalhar o estudo da atividade antinociceptiva apresentada pelo EEHc, realizamos a investigação de um possível mecanismo de ação envolvendo a participação do sistema opióide. Com este intuito, os animais foram submetidos novamente ao teste da formalina, depois de previamente tratados com a naloxona (antagonista opióide não-seletivo). A naloxona foi administrada quinze minutos antes da administração do EEHc na dose de 800 mg/kg e da morfina. Escolhemos essa dose do EEHc por esta ter apresentado melhor efeito antinociceptivo no teste da formalina.

Nas duas fases do teste, o EEHc na dose de 800 mg/kg apresentou redução significativa no tempo de lambida do animal, porém, a morfina, por ser um agonista de receptores opióides, teve seu efeito revertido pela naloxona (gráficos 15 e 16). Desta forma, o resultado indica que o EEHc não exerce seus efeitos por meio da ativação dos receptores opióides.

Com base nesses resultados, fica evidenciado que o EEHc apresentou efeito antinociceptivo no SNC, quando administrado por via i.p., porém, tal efeito não envolve o sistema opióide no controle da dor em nível central.

Estudos com substâncias que não atuam no sistema opióide para promover um efeito analgésico são associadas com uma atuação sobre o sistema da adenosina (MIRANDA et al., 2001). Portanto, novos ensaios com antagonistas específicos são necessários para esclarecer os mecanismos envolvidos com a antinocicepção obtida com este extrato.

Os resultados obtidos neste trabalho são um estímulo para continuarmos a testar o extrato e suas frações em testes específicos quanto a sua atividade antinociceptiva, e também continuar a realizar mais testes para investigar uma possível atividade sedativa.

Conclusões

8. CONCLUSÕES

Diante da análise dos resultados obtidos no presente estudo, nas doses utilizadas e via testada, conclui-se que o EEHc:

- Apresentou uma baixa toxicidade, baseado na observação durante a triagem farmacológica comportamental e nas 72 horas subsequentes, não havendo mortes nas doses até 2000 mg/kg via i.p.;
- Não diminuiu o tempo de permanência na barra giratória no teste do rota-rod, descartando-se efeito miorreaxante ou neurotóxico;
- Apresentou características de drogas com perfil sedativa-hipnótica, evidenciadas no teste do campo aberto e da potencialização do sono induzido pelo tiopental;
- No teste do labirinto em cruz elevado, apresentou resultados que não o correlaciona a um perfil de droga ansiolítica;
- Não exerce efeito de forma semelhante ao de drogas anticonvulsivantes utilizadas para o tratamento de crises epiléticas, como foi observado com a realização do teste das convulsões induzidas pelo eletrochoque auricular;
- Apresentou efeito antinociceptivo revelado nos testes das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, da placa quente e da formalina;
- No teste da formalina, teve seu efeito antinociceptivo em nível central confirmado, uma vez que, reduziu o tempo de lambida da pata nas duas fases do teste;
- No teste da formalina, após tratamento com naloxona, não houve reversão do efeito analgésico induzido pelo EEHc na dose de 800 mg/kg, indicando que o efeito seria mediado por uma via não-opiíde.

Perspectivas

9. PERSPECTIVAS

Baseado nos resultados apresentados e nas conclusões obtidas no presente estudo da ação psicofarmacológica do EEHc, surgiram perspectivas futuras para complementar a caracterização das propriedades farmacológicas desta espécie vegetal, entre elas:

- Continuar a estudar os efeitos promissores de *H. crispa* em um projeto de doutorado aprovado, a ser iniciado ainda este ano;
- Detalhar o estudo da atividade antinociceptiva, observando se o efeito analgésico é revertido pelo emprego de antagonistas dos receptores da adenosina, a fim de se obter dados sobre a via envolvida nesta atividade do EEHc;
- Aprofundar o estudo através do uso de metodologias ainda mais específicas que possam investigar com detalhes os efeitos ansiolítico-sedativos;
- Realizar os testes psicofarmacológicos comparativos com o extrato e as frações de duas espécies de Malvaceae, *H. crispa* e *H. tiubae*, utilizando duas vias de administração (v.o. e i.p.);
- Realizar estudos *in vivo* e *in vitro* sobre a ação antioxidante das espécies *H. crispa* e *H. tiubae*.

Referências

REFERÊNCIAS

AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.

AMES, J. M.; MACLEOD, G. Volatile components of okra. **Phytochemistry**, v. 29, p. 1201-1207, 1990.

AGUIRRE-HERNÁNDEZ, E.; MARTÍNEZ, A. L.; GONZÁLEZ-TRUJANO, M. E.; MORENO, J.; VIBRANS, H.; SOTO-HERNÁNDEZ, M. Pharmacological evaluation of the anxiolytic and sedative effects of *Tilia americana* L. var. *mexicana* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, p. 140–145, 2007.

AHMED, Z.; KAZMI, S. N. H.; MALIK, A. Phytochemical investigation of *Abutilon pakistanicum*. **Journal of Natural Products**, v. 53, p. 1342-1344, 1990.

AKERELE, O. Summary of WHO guidelines for the assessment of herbal medicines. **Herbal Gram**, v. 28, p.1053-1071, 1993.

ALAM, M., JOY, S., USMAN ALI, S. Screening of *Sida cordifolia* Linn. *Sida rhomboidea* Linn. and *Triumfetta rotundifolia* Lam. for anti-inflammatory and antipyretic activities. **Indian Drugs**, v. 28, n. 9, p. 397–400, 1991.

AL-GHAMDI, M. S. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 45-48, 2001.

ALMEIDA, R. N.; BARBOSA-FILHO, J. M. Drogas psicotrópicas. In: **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**, 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap.1, p. 3-23.

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.; ARAÚJO, C. C. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 80, p. 72-76, 1999.

ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plants with central analgesic activity. **Phytomedicine**, v. 8, p. 310-322, 2001.

ALMEIDA, F. R. C.; OLIVEIRA, F. S. Avaliação de drogas analgésicas de ação central. In: ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**, 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006a. cap.17, p. 179-188.

ALMEIDA, R. N.; OLIVEIRA, T. M. L. Triagem farmacológica comportamental. In: ALMEIDA, R.N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**, 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006b. cap.11, p. 131-137.

AMARAL J. F., SILVA M. I. G., NETO M. R. A., NETO P. F. T., MOURA B. A., MELO C. T. V., ARAÚJO F. L. O., DE SOUSA D. P., VASCONCELOS P. F., VASCONCELOS

S. M., SOUSA F. C. F. Antinociceptive effect of the monoterpene *R*-(+)-limonene in mice. **Biological e Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, p.1217—1220, 2007.

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

ANTONIOLLI, A. R.; VILLAR, J. C. **Atividade antinociceptiva e toxicidade aguda do extrato aquoso de *Vitex agnus-castus* L.** Anais do seminário de Pesquisa FAP-SE, 2003.

ARGUROPOLUS, S. V. SANDFORD, J. J., NUTT, D. L. The psychobiology of anxiolytic drugs. Part 2: pharmacological treatments of anxiety. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 88, p. 213-227, 2000.

BALDESSARINI, R. J. Fármacos e o tratamentos dos distúrbios psiquiátricos. In HARDMAN, G. J.; LIMBIRD, L. E.; GILMAN, A. G. **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 10ª ed., Rio de Janeiro: Ed. McGraw Hill, 2005. cap. 19, p. 339-364.

BALDESSARINI, R. J.; TARAZI, F. I. Fármacos e o tratamento dos transtornos psiquiátricos. In HARDMAN, G. J.; LIMBIRD, L. E.; GILMAN, A. G. **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 10ª ed., Rio de Janeiro: Ed. McGraw Hill, 2005. cap. 20, p. 365-390.

BALUNAS, M. J., KINGHORN, D. Drug Discovery from medicinal plants. **Life Sciences**; v.78, p. 431-41, 2005.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, A. C. **Sistemática de Angiospermas no Brasil 2**. Imprensa Universitária, Viçosa, 1991.

BASBAUM, A. I.; JESSEL, T. M. **Principles of Neuroscience**. McGraw-Hill, New York, p. 472–491, 2000.

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.

BEZCHLIBNYK-BUTLER, K. Z.; JEFFRIES, J. J. **Clinical handbook of psychotropic drugs**. 9th ed. Seattle: Hogrefe & Huber; 1999.

BLANCHARD, R. J.; YODKO, E. B.; RODGERS, R. J.; BLANCHARD, D. C. Defense system psychopharmacology: an ethiological approach to the pharmacology of fear and anxiety. **Behavioral Brain Research**, v. 58, p. 155-165, 1993.

BLANCO, M. M.; COSTA, C. A. R. A.; FREIRE, A. O.; SANTOS JÚNIOR, J. G.; COSTA, M. Neurobehavioral effect of essential oil of *Cymbopogon citratus* in mice. **Phytomedicine**, p. 2-6, 2007.

BLANE, G. F. Blockade of bradykinin induced nociception in the rat as a test for analgesic drugs with particular reference to morphine antagonists. **Journal Pharmacology**, v.19, p. 367-373, 1967.

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**, 11^a ed., Rio de Janeiro: Ed. McGraw Hill, 2006. cap. 12, p. 198-216.

BLUMBERG, H.; WOLF, P. F.; DAYTON, H. B. Use of the writhing test for evaluating analgesic activity of narcotic antagonists. **Proceedings of the Society for Experimental Biology Medicine**, v. 118, p. 763-766, 1965.

BOADI, W. Y.; IYERE, P. A.; ADUNHYA, S. E. Effect of quercetin and genistein on copper-and iron-induced peroxidation in methyl linolenate. **Journal of Applied Toxicology**, v. 23, p. 363-369, 2003.

BOVINE, M. G.; OKANO-CARVALHO, R. M.; VIEIRA, M. F. Malvaceae A. Juss. no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 52, p. 17-47, 2001.

BRADLEY, B. F.; STARKEY, N. J.; BROWN, S. L.; LEA, R. W. Anxiolytic effects of *Lavandula angustifolia* odour on the Mongolian gerbil elevated plus maze. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 517-525, 2007.

BRAUN-FILHO, J. L.; BRAUN, L. Dor aguda. **Dor, Diagnóstico e Tratamento**, v.1, p. 3-14, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria SVS nº 971 de 03.05.2006**. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Diário Oficial da União, 04.05.2006. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971_03_05_2006.html> Acesso em: 05.09.2009.

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

CALIXTO, J. B.; YUNES, R.A.; RAE, G. A.; MEDEIROS, Y.S. In **Bradykinin Antagonists: Basic and Clinical Research**; R.M. Burch, Marcel Dekker Inc. New York, 1990, p. 88.

CAMPOS, A. R.; ALBUQUERQUE, F. A. A.; RAO, V. S. N.; MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C. Investigation on the antinociceptive activity of crude extracts from *Croton cajucara* leaves in mice. **Fitoterapia**, v. 73, p. 116-120, 2002.

CARLINI, E. A.; BURGOS, V. Screening farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre o diazepam e o clorobenzapam. **Revista da Associação Brasileira de Psiquiatria**, v. 1, p. 25-31, 1979.

CARLINI, E. A. Plants and the central nervous system. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 3, p. 501-512, 2003.

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.

CARMODY, D. R.; DEJONG, W.; SMITH, T. R. Buttonweed seed oil a source of linoleic acid. **Oil e Soap**, p. 263, 1945.

CARVALHO, A. C. B.; BALBINO, E. E.; MACIEL, A.; JOÃO P. S. PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 314-319, 2008.

CAPONE, F.; ALOISI, A. M. Refinement of pain evaluation techniques. The formalin test. **Ann Ist Super Sanità**, v. 40, p. 223:229, 2004.

CECHINEL FILHO, V. **Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a partir de Produtos Naturais. Correlação Estrutura Química – Atividade Biológica**. Tese de Doutorado, UFSC, Florianópolis-SC, 1995.

CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n.1, p. 99-105, 1998.

CHEN, S. W.; WANE, 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.

CHIANG, L. C.; CHIANG, W.; LIU, M. C.; LIN, C. C. In vitro antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 52, n. 2, p. 194-198, 2003.

COLBERN, D. L., ISAACSON, R. L., GREEN, E. J., GISPEN, W. H. Repeated intraventricular injections of ACTH1-24: the effects of home or novel environments on excessive grooming. **Behavioral Biology**, v. 23, p. 381-387, 1978.

COLLIER, H. O. J.; DINNEN, L. C.; JONNSON, 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.

COPASSO, A.; DE FEO, V.; DE SIMONE, F.; SORRENTINO, L. Pharmacology effects of aqueous extract from *Valeriana adscendens*. **Phytoterapy Research**, v. 10, p. 309-312, 1996.

- COSTA, D. A. **Constituintes químicos de *Bakeridesia pickelii* (H. Monteiro) e *Herissantia crispa* L. (Brizicky) (Malvaceae)**. Tese de Doutorado. Laboratório de Tecnologia Farmacêutica / UFPB / João Pessoa, Paraíba. 2006.
- COSTA, A. D.; SILVA, D. A.; CAVALCANTI, A. C.; MEDEIROS, M. A. A.; LIMA, J. T.; CAVALCANTE, J. M. S.; SILVA, B. A.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V. Chemical constituents from *Bakeridesia pickelii* Monteiro (Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-*o*- β -d-(6''-*e*-*p*-coumaroyl) glucopyranoside on guinea-pig ileum. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 901-903, 2007.
- CRAGG, G. M., NEWMAN, D. J.; SNADER, K. M. Natural products in drug discovery and development. **Journal of Natural Products**, v. 60, p. 52-60, 1997.
- CUNHA, W. R.; SILVA, M. L. A.; TURATTI, I. C. C. Avaliação da atividade analgésica de *Miconia ligustroides* (Melastomataceae) utilizando o teste de contorção abdominal em camundongos. **Revista Brasileira de Farmácia**, São Paulo, v. 84, n. 2, p. 47-79, 2003.
- DAWSON, G. R.; TRICKLEBANK, M. D. Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 16, p. 33-36, 1995.
- DELLIUS, J.D. Displacement activities and arousal. **Nature**, v. 214, p. 1259-1260, 1967.
- 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 -epoxy-carvone in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 23-28, 2007.
- DE SOUZA, N. J. Industrial development of traditional drugs : the forskolin example: a mini-review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 38, p. 177-180, 1993.
- DE SOUSA, D. P.; SCHEFER, R. R.; BROCKSOM, U.; BROCKSOM, T. J. Synthesis and antidepressant evaluation of three para-benzoquinone mono-oximes and their oxy derivatives. **Molecules**, v. 11, p. 148-155, 2006.
- DICKESON, A. H. Plasticity: implications for opióide and other pharmacological interventions in specific pain states. **Behavioral and Brain Science**, v. 3, p. 392-403, 1997.
- DIMAS, K.; DEMETZOS, C.; MITAKU, S.; MARSELOS, M.; TZAVARAS, T.; KOKKINOPOULOS, D. Citotoxic activity of kaempferol glycosides against human leukaemic cells lines in vitro. **Pharmacology Research**, v. 41, p.85-88, 2000.
- DIONNE, R. A. Pharmacologic treatments for temporomandibular disorders. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 83, n. 1, p. 134-142, 1997.
- DOS SANTOS JR., J. Supportive conservative therapies for temporomandibular disorders. **Dental clinics of North America**, v. 39, n. 2, p. 459-77, 1995.
- 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

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brainstem stimulation in rats and cats. **Pain**, v. 4, p. 161-174, 1977.

DUNHAM, N.W.; MIYA, T.S. A note on simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmacists Association**, v. 46, p. 208-209, 1957.

EDDY, N. B.; LEIMBACK, D. J. Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl and diethienylbutylamines. **Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 107, p. 385-393, 1953.

FERREIRA, S. H.; BARATA, L. E. S.; SALLES-FILHO, S. L. M.; QUEIROZ, S. R. R. **Medicamentos a partir de plantas medicinais do Brasil**. Academia Brasileira de Ciências: São Paulo, 1998.

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.

FINNERUP, N. B.; JENSEN, T. S. Mechanisms of disease: mechanism-based classification of neuropathic pain: a critical analysis. **Nature Clinical Practice. Neurology**, v. 2, n. 2, p. 107-115, 2006.

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

FLINT, J. Animal models of anxiety and their molecular dissection. **Seminars in Cell Developmental Biology**, v. 14, p. 37-42, 2003.

FORMAN, A. S. CHOU, J., STRICHARTZ, G. R., LO, E. H. Farmacologia da neurotransmissão GABAérgica e glutamérgica. In: GOLAN, D. E.; TASHJIAN-JÚNIOR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de Farmacologia**. 2ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, , 2009. cap. 11, p. 146-165.

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

FRANCESCA, C.; ANGELO, A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 581-591, 2000.

FRANCO, C. I. F.; MORAIS, L. C. S. L.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; ALMEIDA, R. N.; ANTONIOLLI, A. R. CNS pharmacological effects of the hydroalcoholic extract of *Sida cordifolia* L. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 275-279, 2005.

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.

FRYXELL, P. A. **Brittonia**, v. 25, n. 2, p. 77-78, 1973.

FRYXELL, P. A. Malvaceae. **Flora del Bajío y de regiones adyacentes**, v. 16, p. 1-176. 1993.

FRYXELL, P. A. The American genera of Malvaceae. II. **Brittonia**, v. 49, p. 204-269, 1997.

FUJIMORI, H. Potentiation of barbital hypnosis as an evaluation method for CNS depressant. **Psychopharmacology**, v. 7, p. 374-377, 1995.

GALANTER, J. M.; LOWENSTEIN, D. H. Princípios de fisiologia e farmacologia do sistema nervoso. In: GOLAN, D. E.; TASHJIAN-JÚNIOR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de Farmacologia**. 2^a ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. cap. 7, p. 82-97.

GANGAROSA, L. P.; MAHAN, P. E.; CIARLONE, A. E. Pharmacologic management of temporomandibular joint disorders and chronic head and neck pain. **Cranio-mandibular Practice**. n. 9, p. 328-38, 1991.

GARCIA, E. S. Biodiversity, biotechnology and health. **Caderno de Saúde Pública**, v.11, n. 3, p. 495-500, Rio de Janeiro, 1995.

GARCIA, E. S.; SILVA, A. C. P.; GILBERT, B.; CORRÊA, C. B. V.; CAVALHEIRO, M. V. S.; SANTOS, R. R.; TOMASINI, T. **Fitoterápicos**. Campinas: André Tosello, 1996. p. 17

GILCHRIST, H. D., ALLARD, B. L., SIMONE, D. A. Enhanced withdrawal responses to heat and mechanical stimuli following intraplantar injection of capsaicin in rats. **Pain**, v. 67, p. 179-188, 1996.

GOLDURÓZ, J. C.; BARBOSA, M. D. S. Métodos para avaliar drogas neurolépticas. In: **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**, 1^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap.15, p. 161-167.

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.

GOMES, A. Y. S.; SOUZA, M. F. V.; CORTES, S. F.; LEMOS, V. S. Mechanism involved in the spasmolytic effect of a mixture of two triterpenes, cycloartenol and cycloeucalenol, isolated from *Herissantia tiubae* in the guinea-pig ileum. **Planta Medica**, v. 71, p. 1025-1029, 2005.

GONÇALVES, J. C. R., OLIVEIRA, F. S., BENEDITO, R. B., SOUSA, D. P., ALMEIDA, R. N.; ARAÚJO, D. A. M. A. D. Antinociceptive activity of (-)-Carvone:

Evidence of association with decreased peripheral nerve excitability. **Biological e Pharmaceutical Bulletin**, v. 31 p. 1017–1020, 2008.

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.

GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S. **Fundamentos da Psicofarmacologia**. São Paulo: Atheneu, 1999, p. 246.

GRIFFIN, A. E.; LOWENSTEIN, D. H. Farmacologia da transmissão elétrica anormal no sistema nervoso central. In: GOLAN, D. E.; TASHJIAN-JÚNIOR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de Farmacologia**. 2ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. cap. 14, p. 203-216.

GRIFFIN, R. S.; WOOLF, C. J. Farmacologia da analgesia. . In: GOLAN, D. E.; TASHJIAN-JÚNIOR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de Farmacologia**. 2ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. cap. 16, p. 240-259.

GRUNDMANN, O.; NAKAJIMA, J-I.; 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.

GUO, L., YE, C.; CHEN, W.; YE, H.; ZHENG, R.; LI, J.; YANG, H.; YU, X.; ZHANG, D. Anti-inflammatory and analgesic potency of carboxyamidotriazole, a tumoristatic agent. **American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 2008.

GUTSTEIN, H. B.; AKIL, H. Analgésicos opióides. In HARDMAN, G. J.; LIMBIRD, L. E.; GILMAN, A. G. **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 10ª ed., Rio de Janeiro: Ed. McGraw Hill, 2005. 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.

HALL, C.S. Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, v.18, p. 385-403, 1934.

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

HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemistry Pharmacology**, v. 32, p. 1141, 1983.

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.

HERTOG, M. G., FESKENS, E. J.; HOLLMAN, P. C.; KATAN, M. B.; KROMHOUT, D. Dietary flavonoids and cancer risk in the Zutphen elderly study. **Nutrition and Cancer**, v. 22, p.175-184, 1994.

HEYWOOD, V. H. **Flowering Plants on the World**, Ed. B. T. Batsford Ltda.: London, 1993.

HIRUMA-LIMA, C. A.; GRACIOSO, J. S.; BIGHETTI, E. J. B.; GERMONSEN ROBINÉOU, L.; SOUZA BRITO, A.R.M. The juice of fresh leaves of *Boerhaavia diffusa* L. (Nyctaginaceae) markedly reduces pain in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 267-274, 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.

HUK, I.; BROVKOVICH, V.; NANOBASH, V.; WEIGEL, G.; NEUMAYER, C.; PARTYKA, L.; PATTON, S.; MALINSKI, T. Bioflavonoid quercetin scavenges superoxide and increases nitric oxide concentration in ischaemia-reperfusion injury: an experimental study. **British Journal of Surgery**, v. 85, p. 1080-1085, 1998.

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.

IKEDA Y, UENO A, NARABA H, OH-ISHI S, 2001. Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanooids in the acid-induced writhing responses of mice. **Life Science**, v. 69, p. 2911–2919, 2001.

JOHANN, S.; PIZZOLATTI, M. G.; DONNICI, C. L.; RESENDE, M. A. Antifungal properties of plants used in Brazilian traditional medicine against clinically relevant fungal pathogens. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 632-637, 2007.

JOHANSSON, C.; AHLENIUS, S. Evidence for the involvement of 5-HT_{1A} receptors in the mediation of exploratory locomotor activity in the rat. **Journal of Psychopharmacology**, v. 3, p. 32-35, 1989.

JOLLES, J.; ROMPA-BARENDREGT, J.; GISPEN, W. H. Novelty and grooming behavior in the rat. **Behavioral Neural Biology**, v. 25, p. 563-572, 1979.

JOLY, A. B. Família Malvaceae. In: **Botânica - introdução à taxonomia vegetal**, 13^a ed.; Companhia Editora Nacional, 2002, p. 458-461.

JONAVIC, S. V.; STEENKEN, S.; SIMIC, M. G.; HARA, Y. Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoid radicals. In: **Rice Evans C, Packer L. Flavonoids in health and disease**. New York: Marcel Dekker; 1998. p 137-161.

JONES, E. G. Viewpoint: the core and matrix of thalamic organization. **Neuroscience**, v. 85, p. 331-345, 1998.

JORGE, A. P. **Efeito insulino-mimético do canferol 3,7-O-(α)-L-diraminosídeo na glicemia e na captação da 2-[14 C (U)]-deoxi-D-glicose em músculo sóleo de ratos.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

JULIUS, D., BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, p. 413, 203–210, 2001.

KAHRAMAN, A.; ERKASAP, N.; KOREN, T.; SERTESER, M.; AKTEPE, F.; ERKASAP, S. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. **Toxicology**, v. 183, p. 133-142, 2003.

KANEUCHI, M.; SASAKI, M.; TANAKA, Y.; SAKURAGI, N.; FUJIMOTO, S.; DAHIYA, B. Quercetin regulates growth of ishikawa cells through the suppression of EGF and cyclin D1. **Int. J. Oncol.**, v.22, n. 1, p. 159-164, 2003.

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

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.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; CASTRO, M. S. de A.; LIMA, T. C. M. de. **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais.** Porto Alegre: Gráfica Metrópole, 119 p. Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais, 2003.

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.

LIESVELD, J. L.; ABOUD, C. N.; LU, C.; MCNAIR, C.; MENON, A. Flavonoid effects on normal and leukemic cells. **Leukemia Research**, v. 27, p. 517-527, 2003.

LIMA, I. O.; COSTA, V. B. M.; MATIAS, W. N.; COSTA, D. A.; SILVA, D. A.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V.; LIMA, E. O.; BATISTA, L. M. Biological activity of *Herissantia crispa* (L.) Brizicky. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 249-254, 2009.

LIMA, I. O. **Avaliação farmacológica do extrato metanólico bruto e da fase n-butanólica obtida da espécie *Herissantia crispa* (L.) Brizicky em modelos animais frente à atividade antiulcerogênica.** Dissertação de Mestrado. Laboratório de Tecnologia Farmacêutica / UFPB / João Pessoa, Paraíba. 2008.

LIMA, L. R. M.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S.; STRINGHETA, P. C.; TINOCO, A. L. A.; SILVA, J. F. Bixina, norbixina e quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 4, p. 196-200, 2001.

LIN, S. Y.; TSAI, S. J.; WANG, L. H.; WU, M. F.; LEE, H. Protection by quercetin against cooking oil fumes induced DM damage in human lung adenocarcinoma CL-3 cells: role of C. **Nutr. Cancer**, v. 44, p. 95-101, 2002.

LIRA, S. R. S. **Efeitos farmacológicos do extrato etanólico de *Combretum leprosum* Mart. & Eicher sobre o sistema nervoso central**. Dissertação de Mestrado. Laboratório de Tecnologia Farmacêutica / UFPB / João Pessoa, Paraíba. 2001.

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180-185, 1987.

LODGE, D.; JOHNSON, K. M. Noncompetitive excitatory amino acid antagonists. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 11, p. 81-86, 1990.

LOPEZ-LOZARO, M. Flavonoids as anticancer agents. structure-activity relationship study. **Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents**, v. 2, p. 691-714, 2002.

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

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.

LOSCHER, 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.

McQUAY, H. J. Antidepressants and chronic pain. Effective analgesia in neurophatic pain and other syndromes. **British Medical Journal**, v. 314, p. 763, 1997.

MANDAL, S. C., DHARA, A. K., MAITI, B. C. Studies of psychopharmacological activity of *Andrographis paniculata* extract. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 253-256, 2001.

MARQUEZ, J. O. Bases de anatomia e fisiopatologia. **Dor, Diagnóstico e Tratamento**, v. 1, p. 3-10, 2004.

MARTINS, S. A. A. **Taxol: sua história e isolamento a partir da árvore de "Yem"**. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa, 2004.

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

MATSUDA, H.; NINOMIYA, K.; SHIMODA, H.; YOSHIKAWA, M. Hepatoprotective principles from the flowers of *Tilia argentea* (Linden): Structure requirements of tiliroside and mechanisms of action. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**, v. 10, p. 707-712, 2002.

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.; FRANÇA, C. I. F. Testes gerais para confirmar a ação central. In: ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**. 1ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, cap. 12, p. 138-142.

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

MENEZES, R. A. Neuroanatomofisiologia da Dor. In: MENEZES, R. A.. **Síndromes Dolorosas – Diagnóstico-Terapêutico – Saúde Física e Mental**. Rio de Janeiro: Editora Revinter, p. 9-19, 1999.

MENSE, S. Basic neurobiologic mechanisms of pain and analgesia, **The American Journal of Medicine**, v. 75, p. 4– 14, 1983.

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

MERSKEY, N. B. **Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms prepared by the International Association for the Study of Pain**. 2ª ed., Seattle: IASP Press; 1994.

MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Progress in Neurobiology**, v. 57, p. 1 – 164, 1999.

MILLAN, M. J. Descending control of pain. **Progress in neurobiology**, v. 57, p. 355-474, 2002.

MILTERSTEINER, A.; MILTERSTEINER, D.; PEREIRA-FILHO, N.; FROTA, A. R.; ELY, P. B.; ZETTLER, C. G.; MARRONI, C. G.; MARRONI, N. P. Uso de quercetina a longo prazo em ratos cirróticos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 3, p. 232-237, 2003.

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.

MIRANDA, F. G. G.; VILAR, J. C.; ALVES, I. A. N.; CAVALCANTI, S. C. H.; ANTONIOLLI, A. R. Antinociceptive and antiedematogenic properties and acute toxicity of *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb. inner bark aqueous extract. **BMC Pharmacology**, England, v. 1, n. 6, 2001.

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.

MORAES, D. S. C.; CAMARGO, E. A. Antidepressivos e anticonvulsivos utilizados no tratamento da dor neuropática. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v.77, p. 44-47, 1999.

MORATO, S.; BRANDÃO, M. L. Paradoxal increase of exploratory behavior in the elevated plus-maze by rats exposed to two kinds of aversive stimuli. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 1113-1120, 1997.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. M. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, p. 24-40, 1999.

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.

MUROTA, K.; TERRÃO, J. Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 417, p. 12-17, 2003.

NAKATANI, M.; FUKUNAGA, Y.; HASE, T. Two aliphatic enone ethers from *Hibiscus rosa-sinensis*. **Phytochemistry**, v. 25, p. 449-452, 1986.

NARAYANAN, N.; THIRUGNANASAMBANTHAM, P.; VISWANATHAN, S.; KANNAPPAREDDY, M.; VIJAYASEKARAN, V.; SUKUMAR, E. Antipyretic, antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Premna herbacea* root. **Fitoterapia**, v. 71, p. 147-153, 2000.

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.

N'GOUEMO, P.; NQUEMBY-BINA, C.; BALDY-MOULINIER, M. Some neuropharmacological effects of an ethanol extract of *Maprounea africana* in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 43, p. 161-166, 1994.

OKESON, J. P. Tratamento das desordens têmporomandibulares. In.: Okeson, J. P. **Dores Orofaciais**. São Paulo. Quintessence Editora, p. 145-7, 1996.

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.

OLIVEIRA, F. S., SOUSA, D. P., ALMEIDA, R. N. Antinociceptive effect of hydroxydihydrocarvone. **Biological e Pharmaceutical Bulletin**, v. 31 n. 4, p. 588-591, 2008.

OLIVEIRA, F. S. **Avaliação da atividade antinociceptiva central e toxicológica de (-)-hidroxiidrocarvonaem roedores**. Tese de Doutorado, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica / UFPB / João Pessoa, Paraíba. 2009.

OTERO, R.; NÚÑEZ, V.; BARONA, J.; FONNEGRA, R.; JIMÉNEZ, S. L.; OSORIO, R. G.; SALDARRIAGA, M.; DÍAZ, A. Snakebites and ethnobotany in the Colombia Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, p. 233-241, 2000.

OZTURK, Y.; AYDINI, S.; BEIS, R.; BASER, K. H. C.; BERBEROGLU, H. Effects of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum calycinum* L. extracts on the central nervous system in mice. **Phytomedicine**, v. 3, p. 139-146, 1996.

PARRA, A. L.; YHEBRA, R. S.; SARDIÑAS, I. G.; BUELA, L. I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, p. 395-400, 2001.

PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; RATES, S. M. K.; POSER, G. L. V. Terpenóides com atividade sobre o sistema nervoso central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1A, p. 140-149, 2009.

PEANA, A. T.; D'AQUILA, P. S.; CHESSA, M. L.; MORETTI, M. D. L.; SERRA, G.; PIPPIA, P. (-)-linalool produces antinociception in two experimental models of pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 460, p. 37-41, 2003.

PEKOE, G. M.; SMITH, D. J. The involvement of opiate and monoaminergic neuronal systems in the analgesia effects of ketamine. **Pain**, v. 12, p. 57-73, 1982.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, p. 149-167, 1985.

PERES, W., TUÑÓN, M. J.; COLLADO, P. S.; HERRMANN, S.; MARRONI, N., GALLEGO, J. G. The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction. **Journal of Hepatology**, v. 33, p. 742-750, 2000.

PEREZ, G. R. M. Neuropharmacological activity of *Solanum nigrum* fruit. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, p. 43-48, 1998.

PHILLIPSON, J. D.; ANDERSON, L. A. Ethnopharmacology and Western medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 25, p.61-72, 1989.

PHILLIPSON, J. D. Phytochemistry and medicinal plants. **Phytochemistry**, v. 56, p. 237-243, 2001.

PINTO, M. S. C. T. A. A percepção da dor e receptores envolvidos. **Revista da Faculdade de Medicina de Lisboa**, v. 5, p. 253-262, 2000.

PLAPER, A.; GOLOB, M.; HAFNER, I.; OBLACK, M.; SOLMAJER, T.; JERALA, R. Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 303, n. 2, p. 530-536, 2003.

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 behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, p. 3-33, 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. 1720-1725, 2006.

QI, L. H.; KANG, L. P.; ZHANG, J. P.; SHI, N.; ZHANG, M.; WU, T. M. Antifibrotic effects of genistein and quercetin *in vitro*. **Yao Xue Xue Bao**, v. 9, p. 648-651, 2001.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A. C. G. M.; AGRA, M. F.; SOUSA, 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.

RAMEZANI, M.; HOSSINZADEH, H.; DANESHMAND, N. Antinociceptive effect of *Elaeagnus angustifolia* fruit seeds in mice. **Fitoterapia**, v. 72, p. 255-262, 2001.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. **Farmacologia**. 6^a ed., Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 2007.

RATHMELL, J. P.; LAIR, T. R.; NAUMAN, B. The role of intrathecal drugs in the treatment of acute pain. **Anesthesia e Analgesia**, v. 101, S.30-43, 2005.

REDESFITO: estratégia de desenvolvimento para o país. Disponível em: <http://www2.far.fiocruz.br/redesfito/v2/>. Acesso em: 10.09.2008.

REVILLA, J. **Cultivando a saúde em hortas caseiras e medicinais**. 5^a ed., Manaus: Edição SEBRAE – INPA, 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.

RILEY, H.; SPINKS, A. Biological assesment of tranquilizers. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 10, p. 657-671, 1958.

RODRIGUES, A. G. Fitoterapia no Sistema Único de Saúde. Anais da V Jornada Catarinense e I Jornada Internacional de Plantas Medicinais. Joinville, 2006. p. 68-69.

ROWINSKY, E. K.; DONEHOWER, R. C. Paclitaxel (Taxol). **New England Journal of Medicine**, v. 332, p. 1004-1014, 1995.

RYLSKI, M.; DURIASZ-ROWINSKA, H.; REWERSKI, W. The analgesic action of some flavonoids in the hot plate test. **Acta Physiol. Pol.**, v.30, n. 3, p. 385-388, 1979.

SALA, A.; RECIO, M. C.; SCHINELLA, G. R.; MANEZ, S.; GINER, R. M.; CERDÁ-NICOLÁS, M.; RÍOS, J. L. Assesment of the radical scavenger activity of tiliroside. **European Journal of Pharmacology**, v. 461, p. 53-61, 2003.

SAMUELSSON, G. Sesquiterpenoids and diterpenoids with pharmacological and biological activities. **Acta Pharmaceutica Fennica**, v. 101, p. 33-44, 1992.

SARKER, S. D.; UDDIN, S. J.; SHILPI, J. A.; ROUF, R. FERDOUS, M. E. M.; NAHAR, F. Neuropharmacological properties of *Xylocarpus moluccensis*. **Fitoterapia**, v. 78, p. 107-111, 2007.

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.

SARTORI, M. R. K.; PRETTO, J. B.; CRUZ, A. B., BRESCIANI, L. F. V.; YUNES, R. A.; SORTINO, M.; ZACCHINO, S. A., CECHINEL-FILHO, V. Antifungal activity of fractions and two pure compounds flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (Asteraceae). **Pharmazie**, v. 58, n. 8, p. 567-569, 2003.

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.

SCHATZBERG, A. F.; COLE, J. O.; DEBATTISTA C. **Manual of clinical Psychopharmacology**. 4^a ed., Washington, DC: American Psychiatric Publishing, 2003.

SCHIMID, K. M.; PATTERSON, G. W. Distribution of cyclopropenoid fatty acids in Malvaceous plant parts. **Phytochemistry**, v. 27, p. 2831-2834, 1988.

SCHLEMPER, S. R. M.; CORDEIRO, F.; BLOCK, L. C.; CECHINEL-FILHO, V. Atividade antibacteriana de frações semipurificadas e compostos puros de *Wedelia paludosa* (Compositae). **Alcance** (Itajaí), v. 5, n. 2, p. 14-18, 1998.

SCHLINGER, H.; POLING, A. Acute and chronic effects of methsuximide and mephenytoin on delayed-matching-to-performance of pigeons. **Psychopharmacology**. v. 95, p. 82, 1988.

SCHOFFERMAN J. The use of medications for low back pain. In: Cole, A. J.; Herring, S. A., editors. **The low back pain handbook**. 2^a ed., Philadelphia, PA: Hanley and Belfus, 2003.

SCHULTZ, A. R. **Introdução ao estudo da botânica sistemática**, 3^a ed., Globo: Porto Alegre, 1968.

SEN, T.; CHAUDHURI, K. N. Studies on the neuropharmacological aspects of *Pluchea indica* root extract. **Phytotherapy Research**, v. 6, p. 175-179, 1992.

SEZIK, E.; YESILADA, E.; TABATA, M.; HONDA, G.; TAKAISHI, Y.; FUJITA, T.; TANAKA, T.; TAKEDA, Y. Traditional medicine in Turkey. VIII. Folk medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Agri, Kars, Iğdir provinces. **Economic Botany**, v. 51, p. 195-211, 1997.

SHARMA, P. V.; AHMAD, Z. A. Two sesquiterpene lactones from *Abutilon indicum*. **Phytochemistry**, v. 28, p. 3525, 1989.

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.

SIANI, A. C., GILBERT, B. Far-Manguinhos/Fiocruz: estratégias para inserção da fitoterapia em saúde pública. **Riopharma**, v. 18, 2000.

SILVA, D. A.; CHAVES, M. C. O.; COSTA, D. A.; MORAES, M. R. R.; NÓBREGA, F. B. P.; SOUZA, M. F. V. Flavonoids from *Herissantia tiubae*. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, p. 197-200, 2005a.

SILVA, D. A.; COSTA, D. A.; SILVA, D. F.; SOUZA, M. F. V.; AGRA, M. F.; MEDEIROS, I. A.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BRAZ-FILHO, R. Flavonóides glicosilados de *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae) e testes farmacológicos preliminares do canferol 3,7-di-O- α -L-ramnopiranosídeo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 23-29, 2005b.

SILVA, M. G.; OLIVEIRA, F. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; OLIVEIRA, T. M. L.; DINIZ, M. F. F. M. Investigação do efeito analgésico central e antiinflamatório de *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R.M. King & H. Robinson em Roedores. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 24, p. 533-537, 2005c.

SILVA, M. G.; OLIVEIRA, F. S.; DINIZ, M. F. F. M.; TAKEMURA, O. S. Atividade antiinflamatória do extrato etanólico de *Conocliniopsis prasiifolia* na resposta celular de neutrófilos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 569-572, 2008.

SILVA, D. A.; FALCÃO-SILVA, V. S.; GOMES, A. Y. S.; COSTA, D. A.; LEMOS, V. S.; AGRA, M. F.; BRAZ-FILHO, R.; SIQUEIRA-JUNIOR, J. P.; SOUZA, M. F. V. Triterpenes and phenolic compounds isolated from the aerial parts of *Herissantia tiubae* and evaluation of 5,49,-dihydroxy-3,6,7,8,39-pentamethoxyflavone as a modulator of bacterial drug resistance. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, p. 128-133, 2009.

SIVAM, S. P.; NABESHIMA, T.; HO, I. K. Acute and chronic effects of pentobarbital in relation to postsynaptic GABA receptors: A study with muscimol. **Journal of Neuroscience Research**, v. 7, p. 37-47, 2004.

SILVERTHORN, D. U. O sistema nervoso. In: SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. 2ª ed., Editora Manole, 2003. cap. 8, p. 214-250.

SIMÕES, C. M. O; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas de medicina popular no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1986.

SOUZA BRITO, A. R. M. **Manual de Ensaios Toxicológicos *in vivo***. Editora UNICAMP: Campinas SP, 1994. p. 122.

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.

STANDAERT, D. G.; GALANTER, J. M. Farmacologia da neurotransmissão dopaminérgica. In: GOLAN, D. E.; TASHJIAN-JÚNIOR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de Farmacologia**. 2ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. cap. 12, p. 166-185.

STEINBACH, J. H.; AKK, G. Modulation of GABA_A receptor channel gating by pentobarbital. **Journal of Physiology**, v. 537, p. 715-733, 2001.

STEIN, C., BUENO, O. F. A., XAVIER, G. F. Rats do react to stimulus omission. **Brazilian Journal of Biological Research**, v. 27, p. 2423-2430, 1994.

STEVENS, P. F. 2003. Angiosperm phylogeny website. <http://www.mobot.org>. Acessado em maio de 2003.

STHAL, S. M. **Essential psychopharmacology. Neuroscientific basis and practical applications** 2nd ed., UK: Cambridge University Press, 2000.

SUTRADHAR, R. K.; RAHMAN, A. M.; AHMAD, M; BACHAR, S. C.; SAHA, A.; GUHA, S. K. Bioactive alkaloid from *Sida cordifolia* Linn. with analgesic and anti-inflammatory activities. **Iranian Journal of Pharmacology e Therapeutics**, v. 5, p. 175-178, 2006.

SWANSON, L. W. The neuroanatomy revolution of the 1970s and the hypothalamus. **Brain Research Bulletin**, v. 50, p. 397, 1999.

SWINYARD, E. A. Laboratory evaluation of antiepileptic drugs. Review of laboratory methods. **Epilepsia**, v. 10, p. 107-119, 1969.

TAYLOR, J. L. S.; RABE, T.; MCGAW, L. J.; JÄGER, A. K.; VAN STADEN, J. Towards the scientific validation of traditional medicinal plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 23-37, 2001.

THEOHARIDES, T. C.; ALEXANDRAKIS, M.; KEMPURAJ, D.; LY TINAS, M. Anti-inflammatory actions of flavonoids and structural requirements for new desing. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 14, n. 3, p. 119-127, 2001.

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.

TORTAMANO, N. **Guia Terapêutico Odontológico**. 12^a. ed., São Paulo. Santos livraria e Editora, 1997. p. 173.

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

TUCKER, M. R., DOLWICK, M. F. Tratamento dos distúrbios da articulação têmporo-mandibular. In.: PETERSON, L. J., ELLIS III, E., HUPP, J. R., TUCKER, M. R. **Cirurgia Oral e Maxilofacial Contemporânea**. 2^a ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. cap. 29, p. 643-4, 1996.

VALE, F. M. Dor – Novos aspectos fisiopatológicos e conseqüentes estratégias farmacológicas. **Revista da Faculdade de Medicina de Lisboa**, Série III, v. 5, n. 5, p.291-304, 2000.

VANEGAS, H.; SCHAIBLE, H-G. Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory? **Brain Research Reviews**, v. 46, p. 295-309, 2004.

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.

VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VENÂNCIO, A. M. **Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. (manjeriçã), em *mus Musculus* (camundongos)**. Dissertação do Mestrado da Universidade Federal de Sergipe, Aracajú, SE, 2006.

VENKATESH, S.; REDDY, S. R.; SURESH, B.; RESSY, B. M.; RAMESH, M. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Sida rhomboidea* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, p. 229-232, 1999.

VICKERY, J. R. The fatty acid composition of seed oils from ten plant families with particular reference to cyclopropene and dihydrosterculic acids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, p. 87-91, 1980.

VILELA-FILHO, O. Dor: anatomia funcional, classificação e fisiopatologia. **Jovem Médico**, v. 2, p. 125-132, 1998.

VOGEL, H. G.; VOGEL, W. H. **Drug discovery and evaluation, pharmacological assays**. Berlin: Springer, p. 370-371, 1997.

WANG, H. K. The therapeutic potential of flavonoids. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 9, p. 2103-2119, 2000.

WEISS, S. M.; WADSWORTH, G.; FLETCHER, A.; DOURISH, C. T. Utility of ethological analysis to overcome locomotor confounds in elevated maze of anxiety. **Neuroscience e Biobehavioral Reviews**, v. 23, p. 265-271, 1998.

WHITE, B. A. The use of changes in capillary in mice to distinguish between narcotic and non-narcotic analgesics. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v. 22, 246-253, 1964.

WILDER-SMITH, C. H. Predicting pain and pain responses to opióides. **European Journal of Pain Supplements**, v. 1, p 31-37, 2007.

WILLAIN-FILHO, A. **Potencial analgésico de flavonóides: estudo do mecanismo de ação da quercetina**. Dissertação do Mestrado. Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2005.

WILLIS, W. D ; WESTLUND., K. N. Neuroanatomy of the pain system that modulate pain. **Journal of Clinical Neurophysiology**, v. 14, p. 2-31, 1997.

WILLIS-JUNIOR, W. D. Organização celular. In: LEVY, M. N.; STATON, B. A.; KOEPPEN, B. M. **Fundamentos de Fisiologia**, 4^a ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2006a. cap. 6, 75-86.

WILLIS-JUNIOR, W. D. Sistema motor. In: LEVY, M. N.; STATON, B. A.; KOEPPEN, B. M. **Fundamentos de Fisiologia**, 4^a ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2006b. cap. 9, 123-154.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Monographs on selected medicinal plants. v. 1, 1999.

WOOLFRE, H. G., MACDONALD, A. D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride. **Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 80, p. 300-307, 1944.

YANO, S.; SUZUKI, Y.; YUZURIHARA, M.; KASE, Y.; TAKEDA, S.; WATANABE, S.; ABURADA, M.; MIYAMOTO, K. Antinociceptive effect of methyleugenol on formalin-induced hyperalgesia in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 553, p. 99-103, 2006.

YESILADA, E.; GÜRBÜZ, I. A. **Compilations of the studies on the anti-ulcerogenic effects of medicinal plants. Recent progress in medicinal plants**, SCI Tech Publishing LLC: Houston, 2002.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL-FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZHANG, L.; HU, J.; LIN, J.; FANG, W.; DU, G. Anti-inflammatory and analgesic effects of ethanol and aqueous extracts of *Pterocephalus hookeri* (C.B. Clarke) Höeck. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 123, p. 510–514, 2009.

ZANOLI, P.; ZAVATTI, M.; RIVASI, M.; BRUSIANI, F.; LOSI, G.; PUIA, G.; AVALLONE, R.; BARALDI, M. Evidence that the beta-acids fraction of hops reduces central GABAergic neurotransmission. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 87–92, 2007.

ZEILHOFER, H. U. Prostanoids in nociception and pain. **Biochemical of pharmacology**, p. 165-174, 2007.

Anexos

ANEXO I. Protocolo experimental

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

Quadro 1: Protocolo utilizado na Triagem Farmacológica Comportamental (Fonte: ALMEIDA et al., 1999).