

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

BRUNO ARAÚJO SERRA PINTO

**ESTUDO PSICOFARMACOLÓGICO DO EXTRATO BRUTO DAS
CASCAS DE *Himatanthus drasticus* MART.**

SÃO LUÍS

2011

BRUNO ARAÚJO SERRA PINTO

**ESTUDO PSICOFARMACOLÓGICO DO EXTRATO BRUTO DAS
CASCAS DE *Himatanthus drasticus* MART.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para obtenção da titulação de Mestre em Saúde e Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Roberto Sigfrido Gallegos Olea

Co-orientadora: Profa. Dra. Denise Fernandes

Coutinho Moraes

São Luís
2011

Pinto, Bruno Araújo Serra

Estudo psicofarmacológico do extrato bruto das cascas de *Himatanthus drasticus* Mart. / Bruno Araújo Serra Pinto. 2011.

63 f.

Impresso em computador (fotocópia).

Orientador: Roberto Sigfrido Gallegos Olea.

Co-Orientadora: Denise Fernandes Coutinho Moraes.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós - Graduação em Saúde e Ambiente, 2011.

1. *Himatanthus drasticus* Mart. - Atividade anticonvulsivante 2. Neuroléptico 3. Hipnosedativo

I. Título

CDU 615.213: 582.923.5

Bruno Araújo Serra Pinto

Estudo psicofarmacológico do extrato bruto das cascas de *Himatanthus drasticus*
Mart.

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Mestrado
em Saúde e Ambiente, em sessão pública realizada no dia / / ,
considerou o candidato

() APROVADO

() REPROVADO

Prof. Dr. Roberto Sigfrido Gallegos Olea (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Antônio Marcus Andrade Paes
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Antônio Carlos Romão Borges
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Evaldo Augusto Salomão Monteiro
Universidade Estadual do Maranhão

*Aos meus pais, ELIZABETH MARIA ARAÚJO
SERRA PINTO E GEORGE BONFIM SERRA
PINTO, pelo apoio e exemplo de força e dedicação
em toda minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A meus pais e irmãos, **Elizabeth, George, Gustavo e Camila**, que com muito carinho, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida;

A todos meus **familiares**, pela base sólida que sempre me deu força para encarar a vida de frente;

A **Karla Frida Torres Flister**, minha namorada e melhor amiga, pelo apoio constante, por todo seu amor e por ter sido a maior responsável pela superação de todas as dificuldades impostas em toda essa trajetória – “Você é minha inspiração, sem você nada disso teria se concretizado, te amo”;

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Roberto Sigfrido Gallegos Olea** pela orientação, ensinamentos, trabalho, esforço, confiança e amizade, que tornaram possível a realização deste trabalho;

Aos professores, **Antônio Carlos Romão Borges, Reinaldo Nóbrega Almeida, Denise Fernandes Coutinho Moraes** e em especial para o **prof. Antônio Marcus Andrade Paes**, pelo amadurecimento de conhecimentos e conceitos essenciais para a execução e conclusão deste trabalho;

Ao **Laboratório de Farmacologia**, pela oportunidade de realização da presente dissertação, em especial para **Caroline Teixeira** e as professoras **Iracelle Carvalho, Maria do Socorro Cartágenes, Sônia Freire e Marilene Oliveira Borges**;

Ao **Laboratório de Produtos Naturais**, fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa, em especial a companheira **Kedma Gonçalves**, mas sem esquecer os demais (**Mayara, Nayara, Dayara, Marcos, Talita e Raquel**);

A todos do **Laboratório de Psicofarmacologia da UFPB**, em especial ao **prof. Reinaldo Nóbrega de Almeida, Franklin Nóbrega e Fabíola**, pelo auxílio e receptividade;

Aos colegas do **Laboratório de Farmacognosia I**, pelo auxílio, materiais e reagentes “emprestados”, em especial a **profa. Maria Nilce Ribeiro, Richard Dutra, Bruno Abreu e Marisa Aranha**. E colegas do **Laboratório de Farmacognosia II**, **Natália Cardoso, Clarice Noletto, Klinger, Willian, Marlla, Tarcylia e Mayara**;

A todos eternos amigos da **FA032, Farmáquina***, DAFAR, curso de Farmácia e Dom Bosco**, presentes e responsáveis pela maioria dos momentos felizes, essenciais para a vida;

Aos meus companheiros do **Mestrado de Saúde e Ambiente**, em especial para **Giselle Abrantes**;

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES**, pela concessão da bolsa de pós-graduação;

A **Fundação de Amparo a Pesquisa do Maranhão – FAPEMA**, pelos recursos concedidos para execução deste projeto;

E finalmente, a todos que por falta de espaço não pude citar e que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho.

"Quando a próxima tarefa é uma montanha a sua frente, ela pode parecer muito difícil de escalar. Mas, você não precisa escalá-la de uma só vez... dê um pequeno passo... e dê mais um pequeno passo... e, mais um... e então outro... E você descobrirá que a tarefa, que era uma montanha à sua frente, é apenas uma montanha que você já escalou!"

Aslhey Rice

RESUMO

Himatanthus drasticus Mart. popularmente conhecida como janaúba, é amplamente utilizada de forma medicinal como antitumoral, antiulcerogênica e analgésica. Estudos farmacológicos anteriormente realizados constataram ação antiulcerogênica, antiinflamatória, analgésica e antitumoral do extrato bruto e compostos isolados da espécie. Este trabalho investigou os efeitos psicofarmacológicos da administração aguda do extrato hidroalcoólico (EHA) das cascas de *Himatanthus drasticus* em camundongos. Inicialmente, foi realizada uma triagem farmacológica comportamental para a investigação de possíveis alterações induzidas pelo EHA. Camundongos *swiss* machos foram tratados com EHA (10, 30 e 100 mg/kg) ou veículo (salina a 0,9%) 30 min (i.p.) antes dos experimentos. Foram observados efeitos sedativos e neurolépticos do extrato nas doses utilizadas de forma dose dependente. O EHA apresentou baixa toxicidade com DL₅₀ de 3,4 g/kg. Em virtude do potente efeito sedativo apresentado, mesmo em baixas doses, o estudo foi direcionado para realização de testes relacionados a uma depressora do sistema nervoso central, como testes de atividade hipnosedativa, anticonvulsivante e neuroléptica. Para este fim foram escolhidos os testes de potencialização do sono induzido por barbitúricos, indução de catalepsia e indução de convulsões com pentilenotetazol (PTZ) e estriçnina (STR). Foram observados significantes efeitos de potencialização da hipnose e do estado de catatonia com todas as doses do EHA de forma progressiva. Não foram observadas diminuições dos parâmetros convulsivos dos animais tratados no teste de convulsões pela estriçnina, excluindo assim o envolvimento de mecanismos miméticos da glicina. No teste de convulsões induzidas pelo PTZ, o EHA apresentou significativa atividade anticonvulsivante e bioprotetora em todos os parâmetros avaliados e em todas as doses testadas de forma bem semelhante ao controle positivo (diazepam), sugerindo uma participação do EHA em nível de receptores gabaérgicos, explicando de forma satisfatória os efeitos sedativos e anticonvulsivantes apresentados. Com isto, este teste foi escolhido para avaliação da fração de alcalóides totais (FAT) nas doses de 3 e 10 mg/kg, no entanto a FAT não apresentou resultados tão significativos quanto o EHA, sugerindo que os efeitos do extrato estejam relacionados a outros metabólitos secundários ou ao fitocomplexo. Nossos resultados demonstram pela primeira vez,

ação anticonvulsivante, neuroléptica e hipnosedativa do EHA de *H. drasticus*, norteando trabalhos futuros que visem elucidar os mecanismos pelos quais estes efeitos são mediados.

Palavras-chave: *Himatanthus drasticus* Mart. Anticonvulsivante. Neuroléptico. Hipnosedativo.

ABSTRACT

Himatanthus drasticus Mart. popularly known as janauba, is so widely used medicinally as antitumor, antiulcer and analgesic. Pharmacological studies carried out previously found antiulcerogenic, anti-inflammatory, analgesic and antitumor actions of crude extract and isolated compounds of the species. This study investigated psychopharmacological effects of acute administration of hydroalcoholic extract (EHA) from the barks of *Himatanthus drasticus* in mice. Initially, we performed a pharmacological behavioral screening to investigate potential changes induced by EHA. Swiss male mice were treated with EHA (10, 30 and 100 mg/kg) or vehicle (0.9% saline) 30 min (ip) before experiments. Were observed sedative and neuroleptic effects of the extract in a dose dependent. The EHA showed low toxicity with DL₅₀ of 3.4 g/kg. Because of the potent sedative effect appears even at low doses, the study was directed to perform tests related to a central nervous system depressant, such as hypnosedated, anticonvulsant and neuroleptic tests. To this end, potentiation of barbiturate-induced sleep, induction of catalepsy and induction of seizures with pentilenoteteazol (PTZ) and strychnine (STR) were chosen. Significant effects were observed potentiation of hypnosis and state of catatonia with all doses of EHA gradually. There were no decreases in seizure parameters of the treated animals in testing for strychnine convulsions, thus excluding the involvement of glycine mechanisms mimetics. In the test of PTZ-induced seizures, the EHA showed a significant anticonvulsant activity and bioprotector in all parameters evaluated and at all doses tested in a manner very similar to the positive control (diazepam), suggesting an involvement of the EHA-level gabaergics receptors, explaining satisfactorily the sedative and anticonvulsant presented. With that, this test was chosen to evaluate the alkaloids total fraction (FAT) at doses of 3 and 10 mg/kg, but the FAT did not have results significant as the EHA, suggesting that the effects of the extract are related to other secondary metabolites or fitocomplex. Our results demonstrate for the first time, anticonvulsant, neuroleptic and hypnosedated actions of *H. drasticus* extract, guiding future work aimed at elucidating the mechanisms by which these effects are mediated.

Keywords: *Himatanthus drasticus* Mart. Anticonvulsant. Neuroleptic, Hypnosedated.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Avaliação da atividade hipno-sedativa do EHA: Tempo de latência para hipnose (A) e duração da hipnose em minutos (B) após administração de salina (CTR), diazepam (1 mg/kg, i.p.) e EHA (10, 30 e 100 mg/kg, i.p.) As barras verticais representam média \pm EPM (n = 8). **p<0,01 vs. CTR; ***p<0,001 vs. CTR.

Figura 2: Avaliação da atividade neuroléptica do EHA: Tempo de permanência sobre a barra vertical durante o teste da catalepsia após administração de salina (CTR), haloperidol (5 mg/kg, i.p.) e EHA (10, 30 e 100 mg/kg, i.p.) Os pontos representam média \pm EPM (n = 8). *p<0,05 vs. CTR; **p<0,01 vs. CTR; ***p<0,001 vs. CTR.

Figura 3: Avaliação da atividade anticonvulsivante do EHA em modelo de indução com PTZ: Tempo de latência para o início (A), número de crises convulsivas (B), duração média da primeira crise (C), grau de severidade (D) e latência para o óbito em segundos (E) após administração de salina (CTR), diazepam (1 mg/kg, i.p.), EHA (10, 30, 100 e 300 mg/kg, i.p.) e FAT (3 e 10 mg/kg, i.p.) As barras verticais representam média \pm EPM (n = 8). *p<0,05 vs. CTR; **p<0,01 vs. CTR; ***p<0,001 vs. CTR.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Avaliação da atividade anticonvulsivante do EHA em modelo de indução com STR: Tempo de latência para o início, duração média da primeira crise e latência para o óbito em segundos após administração de salina (CTR), fenobarbital (50 mg/kg, i.p.) e EHA (10, 30 e 100 mg/kg, i.p.) As barras verticais representam média \pm EPM (n = 8).
*** $p < 0,001$ vs. CTR.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância

BZD's – Benzodiazepínicos

Ca⁺⁺ - Íons cálcio

CHCl₃ – Clorofórmio

Cl⁻ - Íons cloreto

cm - Centímetro

CTR – Grupo controle negativo

D₁, D₂, D₃, D₄ e D₅ – Receptores dopaminérgicos do tipo 1, 2, 3, 4 e 5

DA's – Drogas anticonvulsivantes

DL₅₀ – Dose letal mediana

EHA – Extrato hidroalcoólico de *Himatanthus drsticus* Mart.

FAT – Fração alcaloídica total

g - Grama

g/ml – Gramas por mililitro

GABA – Ácido gama-amino butírico

GABA_A, GABA_B, GABA_C – Receptores gabaérgicos do tipo A, B e C

HCl – Ácido Clorídrico

i.p. – Via intraperitoneal

Kg – Quilograma

mg/Kg – miligramas por quilograma

mg/ml – miligramas por mililitro

min – Minutos

mm - Milímetro

n – número de indivíduos, da espécie avaliada, usados no experimento

NH₄OH – Hidróxido de Amônio

NMDA e AMDA – Receptores Glutamatérgicos

p – Índice estatístico que representa a probabilidade de uma relação entre variáveis de um mero acaso

pH – Potencial hidrogeniônico

PTZ – Pentilenotetrazol

s – Segundos

SEP's – Sintomas extrapiramidais

SNC – Sistema nervoso central

STR - Estricnina

UEMA – Universidade Estadual do Maranhão

UFMA – Universidade Federal do Maranhão

v.o. – Via oral

WHO – World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo Geral	24
2.2 Objetivos Específicos	24
3 ARTIGO CIENTÍFICO	25
Resumo	26
1 Introdução	27
2 Material e métodos	28
2.1 Coleta e identificação do material botânico	28
2.2 Preparo do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>H. drasticus</i> (EHA)	29
2.3 Obtenção da fração de alcalóides totais (FAT)	29
2.4 Tratamento dos animais	29
2.5 Triagem farmacológica comportamental e determinação da dose letal mediana (DL ₅₀)	30
2.6 Teste do sono induzido por barbitúricos	30
2.7 Teste da indução de catatonia	31
2.8 Teste de convulsão induzida pela STR e PTZ	31
2.9 Análise estatística dos resultados	32
3 Resultados	32
3.1 Triagem farmacológica comportamental e determinação da dose letal mediana (DL ₅₀)	32
3.2 Teste do sono induzido por barbitúricos	32

3.3	Teste de indução da catalepsia	33
3.4	Teste de convulsão induzida por STR e PTZ	34
4	Discussão	35
	Legendas	42
	Referências	47
4	CONCLUSÃO	52
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
	REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

Distúrbios neurológicos constituem uma das principais causas de morte e incapacidade no mundo, podendo afetar diferentes aspectos do comportamento como o pensamento, as emoções, a memória, as sensações, a linguagem e o movimento, interferindo na qualidade de vida sob o ponto de vista biológico, psicológico e/ou social (PRADILLA et al., 2003). Levantamentos epidemiológicos da Organização Mundial de Saúde (WHO) realizados em 2006 indicam uma prevalência de aproximadamente um bilhão de pessoas afetadas por algum transtorno neurológico, com destaque para a epilepsia, perturbações neurocomportamentais (ansiedade e depressão), enxaqueca, doenças cerebrovasculares, neuropatias periféricas e doenças neurodegenerativas (Alzheimer e Parkinson).

A epilepsia, transtorno cerebral mais freqüente na população geral, é uma síndrome complexa, de etiologia diversa caracterizada por crises recorrentes e espontâneas, decorrentes de descargas anormais e desordenadas de células nervosas, numa parte do cérebro ou em sua totalidade (MELLO, 2000). Leva a uma alteração da atividade cerebral, caracterizada clinicamente por manifestações motoras, sensitivas, sensoriais, psíquicas ou neurodegenerativas (GUERREIRO et al., 2000).

Estima-se que cerca de 1% da população mundial seja afetada por algum tipo de epilepsia, sendo que 80% dos casos estão em países em desenvolvimento (MEINARDI et al., 2001). No Brasil, estima-se que existam 157.070 casos novos de epilepsia ao ano (incidência de 100/100.000 hab.) e 1.570.701 a 2.356.052 casos com epilepsia ativa (prevalência de 1% a 1,5%) (GOMES, 2000).

Fundamentalmente, as convulsões se dividem em dois grandes grupos: parciais e generalizadas. As crises parciais originam-se em um grupo pequeno de neurônios que constituem o foco da convulsão. Desta forma, a sintomatologia depende da localização do foco no cérebro. Tais crises podem ser do tipo parcial simples (sem alteração da consciência) ou parcial complexa (com alteração da consciência) (LÖSCHER, 1997).

Nas crises generalizadas, as descargas neuronais são bilaterais e envolvem simultaneamente amplas áreas de ambos os hemisférios cerebrais. A consciência é quase sempre comprometida, e as manifestações motoras afetam os dois lados do corpo. As crises podem ser convulsivas (com fenômenos motores) ou não. No primeiro caso, são classificadas como: tônicas, quando o corpo fica rígido; clônicas, quando há contrações ritmadas seguidas de relaxamento em rápida sucessão; tônico-clônicas, se os dois sintomas estiverem presentes e mioclônicas, caso haja contrações não ritmadas e erráticas de apenas um ou alguns grupos de músculos definidos. Caso não haja fenômenos motores, como os anteriormente descritos, as crises são denominadas atônicas (perda do tônus muscular, sem rigidez do corpo) ou de ausência (perda do contato com o meio) (WESTBROOK, 2000).

Várias teorias foram criadas para explicar a epileptogênese, dentre elas, teorias do “neurônio epiléptico” e agregado neuronal, presença de disfunções eletrolíticas, redução da inibição sináptica mediada por ácido gama-aminobutírico (GABA) e envolvimento de receptores de glutamato (NMDA e AMDA) (NAJIM et al., 2001). Nenhuma destas teorias explica isoladamente a transição de eventos epileptiformes interictais para crises epiléticas recorrentes, provavelmente existindo interação entre todos estes achados, modulados por uma bagagem genética, com atuação sobre o limiar convulsivo (MELLO, 2000).

A neurotransmissão sináptica inibitória no SNC é mediada principalmente pelo ácido γ -aminobutírico (GABA), o qual medeia cerca de 70% das sinapses rápidas no SNC (BELEBONI et al., 2004). O GABA é armazenado em vesículas sinápticas e liberado para o meio extracelular de maneira dependente de Ca^{++} , onde ativa seus receptores. Os receptores GABAérgicos estão divididos em três classes, de acordo com propriedades farmacológicas, bioquímicas e eletrofisiológicas: GABA_A e GABA_C (receptores ionotrópicos) e GABA_B (receptores metabotrópicos) (OLSEN; DE LOREY, 1999).

Os receptores GABA_A e GABA_C são canais iônicos que permitem a entrada de Cl^- , provocando uma hiperpolarização localizada na membrana neuronal, o que dificulta o disparo do potencial de ação necessário para a liberação de neurotransmissores, portanto, a ação do GABA desencadeia a

redução da excitabilidade neuronal, necessária para a propagação do limiar convulsivo (PAUL, 1995).

O segundo aminoácido inibitório mais abundante no SNC é a glicina, que predomina em número de receptores nas regiões do tronco cerebral, medula espinhal e retina, não obstante estar presente em outras estruturas do encéfalo. Semelhante ao GABA, a glicina exerce sua atividade inibitória através da ativação de receptores de alta afinidade com canais intrínsecos permeáveis a íons Cl^- , prevenindo as despolarizações excitatórias induzidas pelo glutamato (KIRSCH, 2006).

Até o momento, poucos ligantes específicos de glicina foram identificados. O mais conhecido destes ligantes é o alcalóide estricnina, antagonista de alta afinidade dos receptores de glicina que induz crises convulsivas em animais. Acredita-se que injeção de agonistas glicinérgicos exerça efeitos anticonvulsivantes. No entanto, nenhuma droga sintetizada até o momento, exerce efeitos exclusivos sobre estes receptores (BÖHME; LUDDENS, 2001).

O tratamento das epilepsias consiste na administração diária de drogas anticonvulsivantes (DA's), as quais mantêm as crises sob controle em cerca de 75% dos pacientes (CZAPINSKI et al., 2005). Nestes casos, as DA's mais utilizadas são: fenobarbital, carbamazepina, fenitoína e ácido valpróico (DUA et al., 2006). Nos demais 25% dos pacientes nos quais ocorre falência terapêutica e subsequente ocorrência de crises convulsivas, são freqüentes os casos onde nem os tratamentos mais invasivos, neurocirurgia e estimulação vagal são eficazes (ÄNGEHAGEN et al., 2003). Além disso, o tratamento com as DA's induz nos pacientes uma ampla variedade de reações adversas, impondo restrições consideráveis ao tratamento crônico e comprometendo a qualidade de vida destas pessoas (MELDRUM & ROGAWSKI, 2007). Dentre estas, observa-se principalmente: espinha bífida em fetos, lesões na matéria branca cerebelar, sedação, comprometimento cognitivo, letargia, ataxia, desconforto gástrico, diplopia, distúrbios de comportamento, agranulocitose e interações medicamentosas diversas (KOHL; DANNHARDT, 2001; MORTARI et al., 2007).

Na tentativa de entender os mecanismos envolvidos no desencadeamento e propagação das crises convulsivas, bem como testar compostos com atividade anticonvulsivante, foram desenvolvidos dezenas de

modelos experimentais de epilepsia. Estes podem ser agrupados em modelos de indução aguda de crises e modelos crônicos (QUINTANS-JUNIOR, 2007).

O uso de modelos animais revelou dados importantes sobre as epilepsias; substratos neuronais envolvidos, recrutamento de áreas, neurodegeneração e alvos bioquímicos para o tratamento. Desta forma, foram descobertas várias DA's novas, desenhadas a partir da modificação estrutural de DA's pré-estabelecidas ou a partir do conhecimento das estruturas neuronais envolvidas no desencadeamento e manutenção da atividade epileptiforme (SMITH et al. 2007).

Os modelos de indução aguda de crise são rápidos e popularmente utilizados em *screenings* farmacológicos, revelando informações importantes como: toxicidade motora e doses efetivas. o principal objetivo destes testes é a contenção das crises convulsivas por drogas em estudo, ou seja, um tratamento sintomático, mas não necessariamente curativo (LÖSCHER, 2002).

O Pentilenotetrazol (PTZ) é uma das principais substâncias indutoras de convulsão que são utilizadas na triagem pré-clínica de novos fármacos anticonvulsivantes, podendo ser utilizada tanto em modelos de crises generalizadas do tipo ausência ou mioclônicas como crises tônico-clônicas (SMITH et al, 2007). O desenvolvimento de benzodiazepínicos e barbitúricos no tratamento das crises convulsivas veio a partir de estudos com o PTZ (LÖSCHER; SCHMIDT, 1988). O PTZ tem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e exercer efeitos excitatórios no SNC ao inibir canais de cloreto associados aos receptores GABA_A (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2008).

Outro método extensamente utilizado para indução de convulsões é a administração sistêmica da estriquina, um potente convulsivante que atua, principalmente, como antagonista competitivo seletivo da inibição pós-sináptica mediada pela glicina, exacerbando assim, a excitação glutamatérgica. Sua principal ação é o aumento da excitabilidade reflexa da medula, gerando extensões tônicas (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2007).

Estudos atuais com os modelos animais acima descritos demonstram efeitos anticonvulsivantes significativos de diversas espécies vegetais, tais como: *Ficus religiosa* (PATIL et al., 2011), *Calamintha officinallis* (MONFORTE et al., 2011), *Anisolemes malabarica* (CHOUDHARY et al., 2011) e *Boerhaavia diffusa*

(KAUR; GOEL, 2011), ratificando a importância da pesquisa de novos compostos e espécies.

Outra neuropatologia de grande importância é a esquizofrenia, definida como um distúrbio psiquiátrico caracterizado por dois distintos grupos de sintomas: positivos e negativos. Os sintomas positivos incluem alucinação, ilusão e distorção da realidade. Já os negativos, se manifestam como isolamento social, acompanhado de embotamento afetivo e diminuição da atenção. Este quadro de sintomas pode ser visto como decorrente da interação entre fatores genéticos e experiências ambientais desfavoráveis. Entretanto, não possui sinais ou sintomas patognomônicos, devendo ser excluídos transtornos decorrentes de uso de drogas e alcoolismo, transtornos metabólicos, tumorais e infecciosos específicos, e transtornos de humor uni e bipolar, com base na observação clínica e curso dos sintomas (SAEB-PARSY et al., 1999; WONG & VAN TOL, 2003).

É uma doença mental severa e de alta prevalência, atingindo cerca de 0,5 a 1% da população. As diferentes estimativas de incidência da esquizofrenia sugerem a ocorrência de aproximadamente quatro casos novos por ano para uma população de 10.000 habitantes. A incidência real deve estar entre 1 e 7 casos novos por ano, dependendo do critério diagnóstico adotado na estimativa (MARI; LEITÃO, 2000). Os estudos epidemiológicos realizados no Brasil originam estimativas de incidência e prevalência compatíveis com as observadas em outros países. Não há consistência de possíveis diferenças na prevalência da esquizofrenia entre sexos, independentemente da metodologia empregada nos diferentes levantamentos epidemiológicos (ALMEIDA et al., 1992).

O paciente esquizofrênico pode apresentar ilusões na área emocional, mística e sexual, alucinações auditivas e olfativas e distorção da realidade. Esses sintomas estão relacionados à hiperatividade dopaminérgica na via mesolímbica e mesocortical, disfunção de circuitos estriatolímbico frontais e hipermetabolismo límbico e são tratados com neurolépticos que bloqueiam os receptores dopaminérgicos centrais (ABI-DARGHAM; LARUELLE, 2005).

Os neurônios dopaminérgicos se encontram organizados em grupos celulares no SNC, conhecidas como vias dopaminérgicas: a mesolímbica, envolvida em processos de sono e vigília e emoção, memória e recompensa; a mesocortical, envolvida em funções cognitivas como atenção, motivação,

planejamento, e comportamento social; a nigroestriatal, envolvida na coordenação sensório-motora e na iniciação do movimento e a túbero-infundibular, envolvida na regulação da liberação de hormônios, funções autonômicas, sede e fome, apetite por nutrientes específicos (sal e açúcar) e comportamento sexual (GRAEFF, 1999).

A dopamina é um neurotransmissor clássico do tipo catecolaminérgico. Cerca de 80% do total da dopamina no SNC encontra-se no estriado, enquanto que o restante encontra-se distribuído difusamente pelo córtex e outras regiões cerebrais. Os receptores dopaminérgicos são metabotrópicos acoplados a proteínas G, e podem ser encontrados tanto pré quanto pós-sinápticamente. Eles são subdivididos em receptores dopaminérgicos do tipo D₁ (receptores D₁ e D₅), que causam ativação da enzima adenilato ciclase, e do tipo D₂ (receptores D₂, D₃ e D₄), que inibem esta enzima (ABI-DHARGHAM et al., 2000).

Os neurolépticos típicos reduzem a agitação, agressão e delírios do indivíduo esquizofrênico. São efetivos na redução dos sintomas positivos (psicóticos) com pouca melhora dos sintomas negativos e déficits cognitivos. O mecanismo de ação está associado ao bloqueio de receptores dopaminérgicos D₂ nos núcleos mesolímbicos, especialmente o núcleo *accumbens*, estria terminal e amígdala (MELTZER, 2002).

Uma vez que os fármacos antipsicóticos são administrados de forma sistêmica, além de sua ação (desejável) no sistema mesolímbico, eles também interagem com os demais sistemas dopaminérgicos. Assim, é sabido que um bloqueio dopaminérgico elevado na via túbero-infundibular é responsável pelo aumento dos níveis de prolactina sérica e galactorréia. Da mesma forma, um elevado nível de bloqueio dopaminérgico da via nigroestriatal é responsável por gerar os indesejados sintomas extrapiramidais (SEP's), como distonia, acatisia, parkinsonismo farmacológico, síndrome neuroléptica maligna e discinesia tardia. A utilização de antipsicóticos típicos, particularmente os mais potentes em bloquear receptores D₂, está extensamente relacionada à ocorrência de SEP's (BASSIT, 1999; KANE, 2001; SCHILLEVOORT et al., 2001; TARSY et al., 2002; NICHOLSON; CHIU, 2004; MONCRIEFF, 2006).

Vários modelos experimentais buscam reproduzir em animais de laboratório os sintomas da esquizofrenia observados em humanos. Porém,

nenhum modelo é capaz de reproduzir completamente todos os sintomas da esquizofrenia. Os modelos animais na verdade, podem ajudar a entender a neurobiologia e alguns sintomas da doença. O estudo dos efeitos extrapiramidais induzidos por drogas neurolépticas tem sido bem descrito na literatura. Estes modelos animais baseiam-se no aumento da atividade muscarínica estriatal, decorrente da hipofunção ou bloqueio exercido pelo antipsicótico nos receptores dopaminérgicos D₂, principalmente, observados através de catalepsia, redução da atividade motora, ptose palpebral, parkinsonismo e discinesia (GMIRO; SERDYUK, 2007; RASMUSSEN et al., 2007).

O teste da catatonia ou catalepsia fundamenta-se no fato de que algumas espécies de roedores, quando sob efeito de uma droga neuroléptica típica, apresentam intensa rigidez muscular. Desta forma, quando os animais são colocados com suas patas dianteiras apoiadas em uma barra horizontal, permanecem sob essa posição por significativo período de tempo. Esse fenômeno experimental é um método de grande utilidade para triagem de agentes antipsicóticos que produzem SEP's, como a catatonia e a rigidez muscular intensa (ALMEIDA, 2006).

Nos últimos anos, devido aos custos relativamente altos e à incidência de efeitos adversos, a terapêutica de doenças neurológicas, tem se voltado para o uso de plantas medicinais (GARCÍA-GARCÍA et al., 2008). Levantamentos etnobotânicos apontam que aproximadamente 150 espécies de plantas são utilizadas para o controle de distúrbios neurológicos (ADAMS et al., 2008).

O gênero *Himatanthus* (Apocynaceae) é composto por 14 espécies identificadas e com distribuição geográfica que se estende desde o sudeste do Brasil até a Guiana Francesa, Suriname e Guiana (AMARO et al., 2006). O uso destas na medicina popular é sustentado por estudos científicos onde foram avaliadas ações antitumoral (BOLZANI et al., 1999; REBOUÇAS et al., 2011), antiespasmódica (RATTMANN et al., 2005), antimicrobiana (SOUZA et al., 2004; MOREIRA et al., 2006; KUIGOUA et al., 2009), antiulcerogênica (BAGGIO et al., 2005), leishmanicida (CASTILLO et al., 2007) e antiparkinsoniana (ENDO et al., 1994).

Himatanthus drasticus (sin. *Plumeria drasticus*) Mart., é uma árvore de grande porte conhecida popularmente como janaúba, janaguba, tiboma, raivosa,

pau-de-leite e sucuúba (PLUMEL, 1991). No Brasil, é utilizada popularmente como antitumoral, antiulcerogênica e analgésica, dentre outros usos (LORENZI; MATOS, 2008). Dados na literatura sobre a espécie são escassos, no entanto estudos recentes realizados por Leite e cols. (2009) demonstraram uma atividade antiulcerogênica do látex de *H. drasticus* contra úlceras induzidas por etanol em camundongos. Estudos realizados por Lucetti e cols. (2010) demonstraram que o lupeol, triterpeno isolado do látex de *H. drasticus*, demonstrou uma ação antiinflamatória, com mecanismo relacionado à redução de mediadores pró-inflamatórios como o TNF- α e a IL-1 β e uma ação antinociceptiva relacionada ao sistema opióide. Ação antinociceptiva também foi confirmada com o extrato etanólico bruto de *H. drasticus* por Colares e cols. (2008).

Mousinho e cols. (2011) em estudos de ação antitumoral do látex de *H. drasticus* chegaram às seguintes conclusões: o látex de *H. drasticus* não demonstrou um efeito citotóxico *in vitro* e hemolítico, mesmo em altas doses; sua amostra era inativada quando administrada por via oral e recomendou para estudos a utilização da via intraperitoneal; não foram observados danos significantes citológicos após a verificação histopatológica; as proteínas do látex de *H. drasticus* mostraram ação imunomodulatória, aumentando a produção de anticorpos OVA-específicos, além de aumentar a produção de colônias de megacariócitos.

O látex (popularmente chamado “leite da janaúba”) e o decocto das cascas de *H. drasticus* são utilizados comumente para diversos fins medicinais e na maioria das vezes de forma irracional. Nenhum estudo foi encontrado na literatura avaliando os efeitos farmacológicos em nível de sistema nervoso central (SNC) da espécie. Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo traçar um perfil psicofarmacológico do extrato hidroalcoólico das cascas de *H. drasticus*. Para tanto, utilizamos modelos comportamentais clássicos para avaliação de efeitos centrais de forma aguda em camundongos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar o potencial hipnosedativo, neuroléptico e anticonvulsivante do extrato hidroalcoólico bruto (EHA) das cascas de *Himatanthus drasticus* Mart. em camundongos.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar a ação hipnosedativa do EHA através do teste de indução de sono por barbitúrico;
- ✓ Avaliar a ação neuroléptica do EHA através do teste de indução de catatonia;
- ✓ Avaliar a ação anticonvulsivante do EHA e da FAT através dos testes de convulsões induzidas por PTZ e STR;
- ✓ Determinar a dose letal (DL₅₀) do EHA, visando a determinação da concentração tóxica tolerável.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo a ser submetido ao periódico *Journal of Ethnopharmacology*

**Anticonvulsivant and sedative effects of hydroalcoholic extract of
Himatanthus drasticus Mart. in mice**

Bruno Araújo Serra Pinto^a

Karla Frida Torres Flister^a

Kedma Rejane Gonçalves Machado^b

Denise Fernandes Coutinho Moraes^c

Roberto Sigrfrido Gallegos Olea^b

^aLaboratório de Pesquisa e Pós-graduação em Farmacologia,

^bLaboratório de Pesquisa em Produtos Naturais e

^cLaboratório de Farmacognosia

Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Maranhão,
Campus do Bacanga, 65085-580,
São Luís (MA), Brasil.

* Correspondência deve ser enviada para:

Pinto, B. A. S.

Fone: (+55) 98 3248 2511

Email: bruno_iznougood@yahoo.br

Resumo

Objetivo do estudo: O objetivo do presente estudo foi investigar ações anticonvulsivantes, neurolépticas e hipnosedativas do extrato bruto das cascas de *Himatanthus drasticus*.

Materiais e métodos: O extrato hidroalcoólico das cascas de *H. drasticus* (EHA) foi submetido a uma triagem farmacológica comportamental com posterior determinação da dosagem letal mediana (DL₅₀). O efeito anticonvulsivante do EHA (10, 30 e 100 mg/kg) foi avaliado em camundongos utilizando testes de convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) e estriçnina (STR). No teste com o PTZ ainda foi testada o extrato bruto na dose de 300 mg/kg e uma fração de alcalóides totais (FAT) do EHA (3 e 10 mg/kg). A ação neuroléptica foi avaliada por meio do teste de indução de catatonia e a ação hipnosedativa, por meio do teste indução do sono por barbitúricos (Malone, 1983; Ohno et al., 2011; Yao et al., 2010; Patil et al., 2011; Mahendran et al., 2011).

Resultados: O EHA apresentou potente efeito sedativo e neuroléptico de forma dose-dependente e baixa toxicidade (DL₅₀ de 3,4 g/kg). Foi observada potencialização da hipnose e do estado de catatonia com todas as doses do EHA de forma progressiva ($p < 0,001$). Não ocorreram diminuições dos parâmetros convulsivos dos animais tratados no teste de convulsões pela estriçnina, excluindo assim o envolvimento de mecanismos miméticos à glicina. No teste de convulsões induzidas pelo PTZ, o EHA apresentou significativa atividade anticonvulsivante e bioprotetora em todos os parâmetros avaliados ($p < 0,001$) de forma bem semelhante ao controle positivo (diazepam), sugerindo uma participação do EHA em nível de receptores gabaérgicos; a administração da FAT, não demonstrou resultados tão significativos quanto o extrato bruto, sugerindo que os efeitos do extrato estejam relacionados a outros metabólitos ativos ou ao fitocomplexo.

Conclusão: Nossos resultados demonstram pela primeira vez, ação anticonvulsivante, neuroléptica e hipnosedativa do EHA de *H. drasticus*, possivelmente por agir facilitando a transmissão gabaérgica.

Palavras chave: *Himatanthus drasticus* Mart., atividade anticonvulsivante, atividade neuroléptica, atividade hipnosedativa.

1. Introdução

Distúrbios neurológicos constituem uma das principais causas de morte e incapacidade no mundo, podendo afetar diferentes aspectos do comportamento como o pensamento, as emoções, a memória, as sensações, a linguagem e o movimento, interferindo na qualidade de vida sob o ponto de vista biológico, psicológico e/ou social (Pradilla et al., 2003). Levantamentos epidemiológicos do World Health Organization (WHO) realizados em 2006 indicam uma prevalência de aproximadamente um bilhão de pessoas afetadas por algum transtorno neurológico, com destaque para a epilepsia, perturbações neurocomportamentais (ansiedade e depressão), enxaqueca, doenças cerebrovasculares, neuropatias periféricas e doenças neurodegenerativas (Alzheimer e Parkinson).

Nos últimos anos, devido aos custos relativamente altos e à incidência de efeitos adversos, a terapêutica de doenças neurológicas, tem se voltado para o uso de plantas medicinais (García-García et al., 2008). Levantamentos etnobotânicos apontam que aproximadamente 150 espécies de plantas são utilizadas para o controle de distúrbios neurológicos (Adams et al., 2008).

O gênero *Himatanthus* (Apocynaceae) é composto por 14 espécies identificadas e com distribuição geográfica que se estende desde o sudeste do Brasil até a Guiana Francesa, Suriname e Guiana (Amaro et al., 2006). O uso destas na medicina popular é sustentado por estudos científicos onde foi avaliada ação antitumoral (Bolzani et al., 2009; Rebouças et al., 2011), antiespasmódica (Rattmann et al., 2005), antimicrobiana (Souza et al., 2004; Moreira et al., 2006; Kuigoua et al., 2009), antiulcerogênica (Baggio et al., 2005), leishmanicida (Castillo et al., 2007) e antiparkinsoniana (Endo et al., 1994).

Himatanthus drasticus (sin. *Plumeria drasticus*) Mart., é uma árvore de grande porte conhecida popularmente como janaúba, janaguba, tiboma, raivosa, pau-de-leite e sucúba (Plumel, 1991). No Brasil, é utilizada popularmente como antitumoral, antiulcerogênica e analgésica, dentre outros usos (Lorenzi and Matos, 2008). Dados na literatura sobre a espécie são escassos, no entanto estudos recentes realizados por Leite e cols. (2009) demonstraram uma atividade antiulcerogênica do látex de *H. drasticus* contra úlceras induzidas por etanol em camundongos. Estudos realizados por Lucetti e cols. (2010) demonstraram que o

lupeol, triterpeno isolado do látex de *H. drasticus*, demonstrou uma ação antiinflamatória, com mecanismo relacionado à redução de mediadores pró-inflamatórios como o TNF- α e a IL-1 β e uma ação antinociceptiva relacionada ao sistema opióide. Ação antinociceptiva também foi confirmada com o extrato etanólico bruto de *H. drasticus* por Colares e cols. (2008).

Mousinho e cols. (2011) em estudos de ação antitumoral do látex de *H. drasticus* chegaram às seguintes conclusões: o látex de *H. drasticus* não demonstrou um efeito citotóxico *in vitro* e hemolítico, mesmo em altas doses; sua amostra era inativada quando administrada por via oral e recomendou para estudos a utilização da via intraperitoneal; não foram observados danos significantes citológicos após a verificação histopatológica; as proteínas do látex de *H. drasticus* mostraram ação imunomodulatória, aumentando a produção de anticorpos OVA-específicos, além de aumentar a produção de colônias de megacariócitos.

O látex (popularmente chamado “leite da janaúba”) e o decocto das cascas de *H. drasticus* são utilizados comumente para diversos fins medicinais e na maioria das vezes de forma irracional. Nenhum estudo foi encontrado na literatura avaliando os efeitos farmacológicos em nível de sistema nervoso central (SNC) da espécie. Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo traçar um perfil psicofarmacológico do extrato hidroalcoólico das cascas de *H. drasticus*. Para tanto, utilizamos modelos comportamentais clássicos para avaliação de efeitos centrais de forma aguda em camundongos.

2. Materiais e métodos

2.1 Coleta e identificação do material botânico

As cascas de *Himatanthus drasticus* foram coletadas no município de São Bento – MA - Brasil, no mês de março de 2010, as quais foram encaminhadas ao Herbário do Núcleo de Estudos Biológicos da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), onde se encontram identificadas e catalogadas sob registro 01032.

2.2 Preparo do extrato hidroalcoólico das cascas de *H. drasticus* (EHA)

As cascas foram dessecadas em estufa com circulação de ar a uma temperatura não superior a 50°C em seguida pulverizadas obtendo-se 3kg de material, o qual foi macerado exaustivamente com Etanol 70% (1:3, p/v) por 72 horas. Este procedimento foi realizado pelo menos três vezes até a exaustão da extração. As soluções extrativas foram reunidas e concentradas em evaporador rotativo, resultando no extrato hidroalcoólico das cascas de *H. drasticus* codificado como EHA, com massa de 231,7g (7,03%).

2.3 Obtenção da fração de alcalóides totais (FAT)

A FAT foi obtida a partir de modificações na metodologia descrita por Sharma e cols. (2010). O EHA foi solubilizado com HCl 5% em seguida particionado com CHCl₃, para obtenção de uma fração ácida e uma clorofórmica. A fração ácida foi alcalinizada com NH₄OH (pH 9,0) até a formação de precipitado insolúvel que foi separado e concentrado para obtenção da FAT com massa de 1,225g (4,33%). A confirmação da presença de alcalóides foi confirmada através de cromatografia de camada delgada revelada com reagente de Dragendorff.

2.4 Tratamento dos animais

Foram utilizados camundongos da espécie *Mus musculus* variação Swiss, (machos, 90 dias, 28±3 g), provenientes do Biotério da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Os animais foram divididos de forma aleatória em 5 grupos, com 7 a 10 animais por grupo, os quais foram denominados e tratados como se segue:

Grupo controle negativo (CTR): camundongos tratados por via intraperitoneal com o veículo (solução salina 0,9%) em dose de 0,1ml/100 g.

Grupo controle positivo: camundongos tratados por via intraperitoneal com diazepam 1 mg/kg (DZP; testes de indução de hipnose e indução de convulsões com PTZ), fenobarbital 50 mg/kg (FEN; teste de indução de convulsões com STR) ou haloperidol 5 mg/kg (HAL; teste da catalepsia).

Grupos tratados com o EHA: camundongos tratados por via intraperitoneal com o EHA nas doses de 10 mg/kg (EHA 10), 30 mg/kg (EHA 30), 100 mg/kg (EHA 100) e EHA 300 mg/kg (EHA 300), o qual foi utilizado somente no teste de convulsões induzidas por PTZ.

Grupos tratados com a FAT: camundongos tratados por via intraperitoneal com a FAT nas doses de 3 mg/kg (FAT 3) e 10 mg/kg (FAT 10).

Durante todo o estudo os animais foram mantidos sob ciclo claro/escuro de 12 horas, temperatura média de 22 ± 2 °C e livre acesso à água e ração (Labina, Purina®, São Paulo, Brasil). Todos os experimentos foram realizados no período das 08h00 às 18h00 e sob iluminação vermelha. Todos os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMA, segundo o parecer nº 23115-006060/2010-18.

2.5 Triagem farmacológica comportamental e determinação da dose letal mediana (DL₅₀)

A triagem farmacológica seguiu o protocolo descrito por Malone (1983). Para este teste utilizou-se um campo aberto com 9 quadrantes quadrados (10 cm de lado), bastão de vidro localizado a 5 cm da superfície (4 mm de espessura) e pinças. Após o tratamento, os animais foram postos, individualmente, em gaiolas para observação e tiveram todas as alterações comportamentais devidamente registradas por 240 minutos em uma tabela de alterações comportamentais.

A determinação da DL₅₀ seguiu o protocolo descrito por Pal e Samanta (2011). Neste experimento os animais foram tratados com doses de EHA de 1, 2, 3, 4 e 5 g/kg pelas vias i.p. e v.o. Exatamente após a administração os animais foram mantidos em observação pelo período de 24hs e contabilizado o número de óbitos, para determinação da dose necessária para causar 50% de mortalidade.

2.6 Teste do sono induzido por barbitúricos

O Teste de sono induzido por barbitúricos seguiu o protocolo descrito por Yao e cols. (2010). Previamente, os camundongos foram privados de alimentos pelo período de 4 horas, para depois serem tratados. Após o tratamento (cerca de

60min) foi administrado pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.) e após a instauração do quadro de hipnose, os animais foram colocados em posição de decúbito dorsal. Foi registrado o tempo de latência para a hipnose e o tempo necessário para a recuperação do reflexo de endireitamento por um período máximo de 4 horas após três tentativas.

2.7 Teste da indução de catatonia

O Teste de Indução de Catatonia seguiu o protocolo modificado a partir de Ohno e cols. (2011). Após o tratamento (cerca de 30 minutos) os animais tiveram suas patas dianteiras postas sobre um bastão de vidro (4 mm de espessura) localizado a 5 cm do solo, de tal maneira que o animal fique praticamente em posição vertical em relação ao solo em posição atípica. Foi registrado durante 5 minutos, o tempo total em que os animais permaneceram nesta posição em três tentativas. Este processo foi repetido nos 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração das substâncias em teste.

2.8 Teste de convulsão induzida pela STR e PTZ

O teste de convulsão induzida pela STR seguiu o protocolo modificado a partir de Patil e cols. (2011) e o de convulsões induzidas pelo PTZ, o protocolo descrito por Mahendran e cols. (2011). Após o tratamento (cerca de 60min), os animais tratados foram divididos em dois novos grupos; ao primeiro foi administrado uma dose de STR de 2 mg/kg (i.p.) e ao segundo uma dose de PTZ de 80 mg/kg (i.p.) e posteriormente, foi registrado durante um período de 15 e 20 minutos, respectivamente, os seguintes parâmetros: Latência para início da primeira convulsão, número de convulsões apresentadas, duração da primeira convulsão, grau de severidade da primeira convulsão, latência para o óbito e a porcentagem de mortalidade.

2.9 Análise estatística dos resultados

Para a definição da toxicidade tolerável, os dados foram expressos em valores de DL₅₀ obtidos por curva de regressão linear. Os demais testes farmacológicos foram expressos como média ± erro padrão das médias e analisados por meio de análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Newman-Keuls. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes para valores de $p < 0,05$ (Sokal and Rohlf, 1996).

3. Resultados

3.1 Triagem farmacológica comportamental e determinação da dose letal mediana (DL₅₀)

Nas doses testadas ocorreu uma marcante tendência do EHA em exacerbar efeitos depressores centrais e autonômicos. Em relação ao SNC, foram observados de forma bem acentuada **abdução das patas posteriores, ambulação diminuída, catalepsia, ptose palpebral e sedação** e de forma menos acentuada **analgesia e diminuição do reflexo auricular e palpebral** e em nível autonômico observou-se aumento leve da **defecação, respiração e piloereção**. Todos estes efeitos foram exacerbados de forma dose-dependente.

O valor de DL₅₀ encontrado foi de **3,4 g/kg**.

3.2 Teste do sono induzido por barbitúricos

Como *screening* para um possível efeito hipnosedativo do EHA, foi realizado o teste de indução de sono, no sentido de verificar se o EHA tem potencial para diminuir o limiar para o sono e/ou prolongar o tempo de hipnose causado pelo barbitúrico. Analisando o tempo de latência para a hipnose, observou-se uma redução significativa em todos os grupos tratados quando comparados ao CTR (3,5±0,13 min). Redução esta de **17,14%** com o EHA 10 (2,9±0,15; $p < 0,01$), **25,71%** com o EHA 30 (2,6±0,08; $p < 0,001$), **28,57%** com o EHA 100 (2,5±0,06; $p < 0,001$) e **31,42%** com o DZP (2,4±0,12; $p < 0,001$) (**Figura**

1A). Enquanto que a duração da hipnose foi aumentada de forma significativa em todos os grupos quando comparados ao CTR, cerca de **207,59%** com o EHA 10 ($165,3 \pm 25,1$ vs. $53,74 \pm 4,28$; $p < 0,001$), **215,59%** com o EHA 30 ($169,6 \pm 17,1$ vs. $53,74 \pm 4,28$; $p < 0,001$), **222,1%** com o EHA 100 ($173,1 \pm 17,4$ vs. $53,74 \pm 4,28$; $p < 0,001$) e **209,45%** com o DZP ($166,3 \pm 19,77$ vs. $53,74 \pm 4,28$; $p < 0,001$) (**Figura 1B**).

3.3 Teste de indução da catalepsia

Para uma melhor caracterização dos efeitos extrapiramidais observados durante a triagem farmacológica, submeteram-se os animais ao teste da catalepsia. Os dados apresentados na **Figura 2** evidenciam aumento do tempo de catalepsia em todos os intervalos mensurados. No intervalo de 30 minutos com o EHA 100 tivemos aumento do tempo em **1.662,47%** em relação ao CTR ($78,43 \pm 26,31$ vs. $4,45 \pm 1,22$; $p < 0,01$), enquanto que o HAL teve seu pico máximo nesse intervalo, com aumento de **6.641,57%** (300 vs. $4,45 \pm 1,22$; $p < 0,001$). A partir dos 60 minutos, observamos aumento significativo de todos os animais tratados em relação ao CTR, **1.186,14%** com o EHA 10 ($128,1 \pm 44,96$ vs. $9,96 \pm 4,56$; $p < 0,01$), **1.526,5%** com o EHA 30 ($162 \pm 51,78$ vs. $9,96 \pm 4,56$; $p < 0,01$), **2.617,87%** com o EHA 100 ($270,7 \pm 18,32$ vs. $9,96 \pm 4,56$; $p < 0,001$) e **2.780,52%** com o HAL ($286,9 \pm 10,79$ vs. $9,96 \pm 4,56$; $p < 0,001$).

A partir dos 90 minutos observamos um aumento do tempo do CTR (provável adaptação ao teste) e o EHA 10 aumentou **335,21%** ($165,6 \pm 51,19$ vs. $38,05 \pm 28,99$; $p < 0,01$); o EHA 30, **428,51%** ($201,1 \pm 44,4$ vs. $38,05 \pm 28,99$; $p < 0,01$); o EHA 100, **668,98%** ($292,6 \pm 7,43$ vs. $38,05 \pm 28,99$; $p < 0,001$) e o HAL, **655,32%** ($287,4 \pm 12,57$ vs. $38,05 \pm 28,99$; $p < 0,001$). No intervalo de 120 minutos, o EHA 10 aumentou **166,26%** ($197,3 \pm 49,5$ vs. $74,1 \pm 38,75$; $p < 0,05$); o EHA 30, **180,16%** ($207,6 \pm 48,02$ vs. $74,1 \pm 38,75$; $p < 0,05$); o EHA 100, **287,98%** ($287,5 \pm 12,5$ vs. $74,1 \pm 38,75$; $p < 0,001$) e o HAL, **294,87%** ($296,3 \pm 3,75$ vs. $74,1 \pm 38,75$; $p < 0,001$).

3.4 Teste de convulsão induzida por STR e PTZ

No sentido de verificar se o efeito sedativo apresentado seria capaz de conter crises convulsivas (estado máximo de excitação neural), submeteram-se os animais a testes de convulsão induzidas por STR e PTZ, agentes convulsivantes com mecanismos de ação distintos e bem descritos.

Os dados na **Tabela 01** descrevem animais administrados com STR e demonstram que o EHA teve uma tendência a reduzir a latência para início e para o óbito nos grupos tratados e não foram percebidas alterações entre estes e o grupo CTR em nenhum dos outros parâmetros avaliados, visto que todos os animais em experimentação tiveram óbito com apenas uma convulsão tônico-clônica (nível 4). O grupo FEN aumentou de forma significativa a latência para início e óbito e a duração, no entanto não foi capaz de proteger os animais da morte.

No teste com o PTZ, no que se refere à latência para o início das crises convulsivas (**Figura 3A**), não foram observadas diferença significativa de tempo com o EHA 10, FAT 3 e FAT 10 quando comparados ao CTR ($83,63 \pm 2,89$ s), no entanto observamos aumento significativo de **450,52%** com o EHA 30 ($460,4 \pm 76,38$ vs. $83,63 \pm 2,89$; $p < 0,05$), **567,58%** com o EHA 100 ($558,3 \pm 127,5$ vs. $83,63 \pm 2,89$; $p < 0,01$), **863,29%** com o EHA 300 ($805,6 \pm 79,31$ vs. $83,63 \pm 2,89$; $p < 0,001$) e **950,22%** com o DZP ($878,3 \pm 163$ vs. $83,63 \pm 2,89$; $p < 0,001$).

No que se refere à duração da primeira convulsão apresentada (**Figura 3B**), observamos redução significativa em todos os animais tratados. Com o EHA 10 observou-se um percentual de redução em relação ao grupo CTR de **59,7%** ($16,25 \pm 2,25$ vs. $40,33 \pm 2,66$ s; $p < 0,001$), com o EHA 30 de **59,58%** (16 ± 3 vs. $40,33 \pm 2,66$; $p < 0,001$), com o EHA 100 de **75,94%** ($9,7 \pm 1,49$ vs. $40,33 \pm 2,66$; $p < 0,001$), com o EHA 300 de **79,81%** ($8,14 \pm 2,07$ vs. $40,33 \pm 2,66$; $p < 0,001$), com a FAT 3 de **70,86%** ($11,75 \pm 2,77$ vs. $40,33 \pm 2,66$; $p < 0,001$), com a FAT 10 de **71,48%** ($11,5 \pm 1,47$ vs. $40,33 \pm 2,66$; $p < 0,001$) e por fim, com o diazepam de **96,47%** ($1,42 \pm 2,25$ vs. $40,33 \pm 1,42$; $p < 0,001$).

Quanto ao grau de severidade das convulsões (**Figura 3C**), ocorreram reduções significativas em relação ao CTR apenas com a FAT 3 em **37,5%**

($2,5 \pm 0,32$ vs. 4), FAT 10 em **50%** (2 vs. 4) e com o diazepam em **89,25%** ($0,43 \pm 0,2$ vs. 4).

Analisando o tempo de latência para a morte (**Figura 3D**), observamos aumento significativo com todos os animais tratados. Com o EHA 10 tivemos aumento em relação ao grupo salina de **251,5%** ($581 \pm 130,1$ vs. $165,3 \pm 33,81$ s; $p < 0,01$), com o EHA 30 de **346,1%** ($737,4 \pm 135,4$ vs. $165,3 \pm 33,81$; $p < 0,001$), com o EHA 100 de **454,5%** ($916,6 \pm 72,1$ vs. $165,3 \pm 33,81$; $p < 0,001$), com o EHA 300 de **540,65%** ($1059 \pm 72,52$ vs. $165,3 \pm 33,81$; $p < 0,001$), com a FAT 3 de **290,6%** ($645,7 \pm 128$ vs. $165,3 \pm 33,81$; $p < 0,001$), com a FAT 10 de **266,9%** ($606,4 \pm 107,5$ vs. $165,3 \pm 33,81$; $p < 0,001$) e com o diazepam de **625,95%** (1200 vs. $165,3 \pm 33,81$; $p < 0,001$).

Em relação ao número de óbitos, observamos redução da porcentagem de mortalidade em todos os animais tratados. Com o grupo CTR observamos **100%** de mortalidade, EHA 10 percebemos uma porcentagem de mortalidade de **81,81%**, com o EHA 30 de **63,63%**, com o EHA 100 de **54,54%**, com o EHA 300 de **45,45%**, com o diazepam de **0%**. Não foram observados óbitos em animais tratados com doses acima de 500 mg/kg do EHA (dados não publicados).

4. Discussão

No presente trabalho foi descrito a investigação dos efeitos do extrato hidroalcoólico de *Himatanthus drasticus* (EHA) em modelos experimentais de atividade no SNC, tais como o teste de convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) e estricnina (STR), potencialização do sono induzido por barbitúricos e o teste da catalepsia, além da determinação da dose letal mediana do EHA, visando estabelecer níveis seguros de consumo do mesmo.

Após os testes, constatou-se que o EHA quando administrado por via intraperitoneal produziu nos camundongos efeito sedativo. No teste de potencialização do sono induzido por barbitúricos foi observada de forma significativa uma diminuição do tempo de latência para a hipnose e aumento do tempo total de sono, no teste de catalepsia, o EHA induziu de forma progressiva e dose dependente o tempo de catatonia nos animais.

No teste de indução de convulsões por PTZ foram observados resultados promissores nos parâmetros avaliados (latência para início, duração, latência para o óbito e número total de óbitos). Neste teste também foi testada a FAT, que reduziu de forma significativa o tempo médio da primeira convulsão, o grau de severidade das convulsões e a latência para o óbito, entretanto com resultados inferiores aos do EHA. E por último o EHA foi avaliado no teste de indução de convulsões por STR, onde não conferiu nenhuma proteção contra os efeitos negativos do indutor.

Experimentalmente, Rodrigues et al. (2010) e Lucetti et al. (2010) verificaram os efeitos analgésico e antiinflamatório, respectivamente, do extrato da *H. drasticus* em modelos animais. Entretanto, nestes e outros trabalhos não foram realizados testes de toxicidade para definição de uma faixa de segurança para utilização do extrato, tanto por via oral como intraperitoneal.

Botham (2004) considerou em seus estudos um extrato vegetal atóxico quando os níveis de DL_{50} fossem superiores 2 g/kg. A dose letal obtida em 50% dos animais (DL_{50}) com o EHA representa uma toxicidade relativamente baixa (3,4 g/kg), o que nos permite considerar o extrato como seguro para consumo e viável para a continuação dos testes pré-clínicos.

Com o propósito de estudar substâncias com propriedades hipnóticas, o modelo do sono induzido por barbitúricos é o teste animal mais utilizado (Jufe, 2009). Nesse modelo, fármacos que deprimem o SNC em geral reduzem a latência e/ou aumentam a duração do sono (Lancel, 1999). Vários estudos têm relatado que o prolongamento da hipnose barbitúrica pode estar relacionado com a inibição metabólica do barbitúrico pela substância-teste ou por uma ação central nos mecanismos de neurotransmissores envolvidos com a regulação do sono (Kaul and Kulkarni, 1978).

No processo de regulação do sono, morfologicamente 3 sub-divisões hipotalâmicas são importantes: o hipotálamo anterior (onde existem os núcleos GABAérgicos e núcleos supraquiasmático); o hipotálamo posterior (com o núcleo túbero-mamilar histaminérgico); e o hipotálamo lateral (onde encontra-se os sistemas das hipocretinas). Durante o ciclo circadiano, o sistema GABAérgico inibitório do núcleo pré-óptico ventro-lateral do hipotálamo anterior é responsável pelo início e manutenção do sono, enquanto que os núcleos aminérgicos (ricos

em 5-HT), histaminérgicos, as hipocretinas e núcleos colinérgicos do prosencéfalo basal apresentam-se ativos durante a vigília, inibindo o núcleo pré-óptico (Saper et al., 2001).

Os receptores GABA_A são os de maior importância por possuírem um papel central na regulação da excitabilidade cerebral, através de seus efeitos inibitórios, e, muitas drogas importantes, tais como benzodiazepínicos, apresentam vários efeitos relacionados com este receptor, tais como a sedação e a indução do sono, a redução da ansiedade e da agressão, a redução do tônus muscular e da coordenação, efeito anticonvulsivante, além de amnésia anterógrada. Estes efeitos dos benzodiazepínicos ocorrem através da potencialização da resposta ao GABA por facilitarem a abertura dos canais de cloreto. Eles se ligam de um modo específico em um sítio regulador do receptor, distinto do sítio ligante do GABA, e agem de modo alostérico, aumentando a afinidade do GABA pelo receptor (Goodman and Gilman, 2010).

Nossos resultados mostraram que o EHA, em todas as doses utilizadas, promoveu a diminuição da latência para o sono, bem como aumentou o tempo total do sono, os quais confirmam a atividade depressora. Outra abordagem que pode ser feita é de que o EHA possa estar alterando de alguma forma as neurotransmissões envolvidas na modulação do sono.

Substâncias com atividade GABAérgica, em doses mais elevadas do que aquelas utilizadas no tratamento da ansiedade, por exemplo, promovem hipnose. (Bateson, 2006). Nossos resultados corroboram com essa hipótese pelo menos em parte, uma vez que o EHA mostrou-se com um alto potencial hipnótico, sobretudo nas maiores doses empregada nos experimentos, porém não foi possível a determinação da atividade ansiolítica, pelo fato de mesmo em baixas doses o EHA ainda ser capaz de ultrapassar o limiar de ansiolítico para hipnótico (dados não publicados).

Para avaliação do EHA como um neuroléptico e sua influência sobre o sistema dopaminérgico, utilizamos o teste da catalepsia. Observamos um marcante aumento do tempo de permanência dos animais sobre a barra horizontal de forma catatônica, aumento este mais pronunciado com o aumento da dose e tempo, de forma bem semelhante ao haloperidol, um conhecido neuroléptico típico cuja ação terapêutica se dá por inibição dos receptores D₂ da

via mesolímbica e de forma inespecífica os receptores da via nigroestriatal (responsável pela catatonía) (Goodman and Gilman, 2010).

A interação do sistema GABAérgico com o sistema neurotransmissor dopaminérgico tem despertado notável interesse nos últimos anos (Leung et al., 2003). Estudos demonstram que o sistema GABAérgico desempenha um importante papel na regulação da função de neurônios dopaminérgicos (Di Chiara et al., 1978). Evidências indicam que há uma elevada concentração de GABA na substância negra e, anatomicamente, a maioria dos neurônios que vêm da substância negra e chegam ao estriado são dopaminérgicos. Assim, uma estimulação GABAérgica na substância negra diminuiria a função dopaminérgica no corpo estriado e em outras áreas cerebrais (Gerfen, 2004).

De fato, foi observado que benzodiazepínicos, como o diazepam, manifestaram marcante redução na concentração extracelular da dopamina, enquanto um aumento da liberação deste neurotransmissor foi iniciado após utilização do antagonista benzodiazepínico, flumazenil (Finlay et al., 1992).

Nossos resultados sugerem uma redução semelhante na concentração de dopamina induzida pelo EHA no corpo estriado dos animais, com conseqüente aumento do tempo de catatonía, sugerindo uma inibição do sistema dopaminérgico na área estudada de forma bem semelhante aos neurolépticos típicos. Sugerindo que o EHA, pelo menos em parte, estaria atuando via sistema GABAérgico na modulação de neurônios dopaminérgicos ou de forma direta sobre os mesmos, assim como o diazepam ou haloperidol, respectivamente.

Os modelos experimentais de epilepsia são necessários para o estudo do distúrbio neuroquímico envolvido no fenômeno epiléptico e são indispensáveis para a seleção de novos agentes anticonvulsivantes. Dentre eles os modelos farmacológicos de convulsão induzida por PTZ e STR são os mais largamente utilizados para avaliar possíveis efeitos anticonvulsivantes das substâncias estudadas, pois mimetizam crises de ausência e crises tônico-clônicas, respectivamente, sendo sua expressão muito semelhante a estes tipos de epilepsias em humanos (Löscher, 2002).

Trabalhos têm demonstrado que a ação convulsivante do PTZ se dá por inibição dos canais de cloreto do receptor GABA_A, e conseqüentemente a ação do neurotransmissor GABA (Mahomed and Ojewole, 2006; Kalueff, 2007), além de

auxiliarem para maior geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) no tecido cerebral (Ilhan et al., 2005). E a STR é um alcalóide, extraído das plantas *Nux vomica* e *Strychnos ignatii*, e atua sobre a inibição dos reflexos da medula espinhal. É um antagonista competitivo dos receptores da glicina, bloqueando a resposta inibitória sináptica da glicina no SNC. Assim, a STR proporciona uma forte crise convulsiva tônica-clônica de forma generalizada que geralmente ocasiona a morte do animal (Kasture et al., 2002; Vasconcelos et al., 2007).

Nossos resultados mostraram que o EHA, mesmo em baixas doses, prolongou a latência para o desenvolvimento das convulsões induzidas por PTZ, e aumentou a latência para a morte dos animais de uma maneira dose dependente. Quando calculado o percentual de proteção contra a mortalidade, observou-se aumento progressivo da proteção de forma significativa e em doses superiores a 500 mg/kg foi capaz de proteger totalmente os animais do óbito (dados não exibidos). Similarmente, no grupo que recebeu DZP, como esperado, ocorreu um aumento da latência para o desenvolvimento das convulsões, bem como foi observado ausência de mortalidade quando administrado intraperitonealmente.

Quando altas doses de PTZ são usadas (Swiader et al., 2006), o aumento da latência para o aparecimento das convulsões (sem inibir completamente tais convulsões) é um forte indicativo de uma ação anticonvulsivante, o que também foi observado com diazepam na dose de 1 mg/kg, usado no presente estudo. Já a proteção contra a mortalidade caracteriza um potencial bioprotetor da substância (Galati et al., 2004; Hosseinzadeh et al., 2005; Almeida et al., 2008). Nesse contexto, nossos resultados sugerem que o EHA apresenta uma possível ação anticonvulsivante e bioprotetora, semelhante àquela promovida pelo DZP e por diversos outros extratos testados recentemente como: *Ficus religiosa* (Patil et al., 2011), *Calamintha officinallis* (Monforte et al., 2011), *Anisolemes malabarica* (Choudhary et al., 2011) e *Boerhaavia diffusa* (Kaur and Goel, 2011).

Diversos estudos têm evidenciado o envolvimento das ERO nas convulsões e efeitos neurotóxicos induzidos pelo PTZ (Obay et al., 2008; Akbasa et al., 2005). Nas últimas décadas, várias substâncias de origem natural dotadas de atividade anticonvulsivante apresentaram também propriedades antioxidantes (Hsieh et al., 1999; Ilhan et al., 2005).

No que se refere ao modelo de indução de convulsões por estriçnina observamos com o EHA uma redução não significativa da latência para início das convulsões e para o óbito de forma bem semelhante aos resultados encontrados por Mishra e cols. (2010) com um extrato das raízes de *Benkara malabarica*. Com base nestas evidências, podemos supor que os efeitos anticonvulsivantes do EHA não se dão por uma ação em nível de receptores glutamatérgicos NMDA (Larson and Beitz, 1988), reforçando ainda mais a teoria de sua ação gaba-mimética.

Os nossos resultados mostraram que o EHA promoveu efeitos satisfatórios no controle de crises convulsivas, em todas as doses testadas. No entanto, quando fracionado e testado apenas a FAT, percebeu-se uma redução considerável desses efeitos. Assim, torna-se claro que os alcalóides do EHA não são os principais responsáveis pelos efeitos anticonvulsivantes apresentados pelo EHA, ou pelo menos, não são capazes de exercer esses efeitos quando administrados isolados, talvez por uma decomposição ou transformação dos componentes do extrato original, sendo necessária a presença de outros metabólitos para, por sinergismo, o fitocomplexo exercer tal fim (Houghton et al., 2007).

Evidenciamos também que a atividade anticonvulsivante do EHA é acompanhada de forte efeito sedativo no animal. No entanto, apesar desse efeito apresentar relevância clínica em determinadas condutas de contenção de alguns episódios convulsivos (quando o intuito é, de fato, também sedar o paciente), sabe-se que uma terapêutica anticonvulsivante profilática continuada dotada de acentuada sedação acarretaria em diversos inconvenientes ao usuário, o que a tornaria inviável. Nesse contexto, nós reconhecemos que futuros estudos da mesma natureza avaliando a atividade anticonvulsivante de frações do EHA livres da FAT são necessários, com o intuito de observar se estas frações não seriam efetivas sem promover este efeito sedativo. Em resumo, os resultados do presente estudo sugerem que o EHA apresentou provável atividade anticonvulsivante e bioprotetora contra convulsões induzidas quimicamente pelo PTZ. Estas ações estão, possivelmente, relacionadas à modulação positiva dos receptores GABA_A/BZP e a possíveis propriedades antioxidantes do EHA. Entretanto, estudos adicionais são necessários para se investigar o exato mecanismo envolvido em tais ações.

Ao que consta da literatura, este é o primeiro relato de avaliação psicofarmacológica das casacas de *H. drasticus* em camundongos tratados de forma aguda. As análises dos dados aqui apresentados são instigantes e devem nortear trabalhos futuros que visem elucidar os mecanismos pelos quais estes efeitos são mediados.

Legendas

Figura 1: Avaliação da atividade hipnosedativa do EHA: Tempo de latência para hipnose (A) e duração da hipnose em minutos (B) após administração de salina (CTR), diazepam (1 mg/kg, i.p.) e EHA (10, 30 e 100 mg/kg, i.p.) As barras verticais representam média \pm EPM (n = 7-10). ** $p < 0,01$ vs. CTR; *** $p < 0,001$ vs. CTR.

Figura 2: Avaliação da atividade neuroléptica do EHA: Tempo de permanência sobre a barra vertical durante o teste da catalepsia após administração de salina (CTR), haloperidol (5 mg/kg, i.p.) e EHA (10, 30 e 100 mg/kg, i.p.) Os pontos representam média \pm EPM (n = 8). * $p < 0,05$ vs. CTR; ** $p < 0,01$ vs. CTR; *** $p < 0,001$ vs. CTR.

Tabela 01: Avaliação da atividade anticonvulsivante do EHA em modelo de indução com STR: Tempo de latência para o início (A), duração média da primeira crise (B) e latência para o óbito em segundos (C) após administração de salina (CTR), fenobarbital (50 mg/kg, i.p.) e EHA (10, 30 e 100 mg/kg, i.p.) As barras verticais representam média \pm EPM (n = 8). *** $p < 0,001$ vs. CTR.

Figura 3: Avaliação da atividade anticonvulsivante do EHA em modelo de indução com PTZ: Tempo de latência para o início (A), duração média da primeira crise (B), grau de severidade (C) e latência para o óbito em segundos (D) após administração de salina (CTR), diazepam (1 mg/kg, i.p.), EHA (10, 30, 100 e 300 mg/kg, i.p.) e FAT (3 e 10 mg/kg, i.p.) As barras verticais representam média \pm EPM (n = 8). * $p < 0,05$ vs. CTR; ** $p < 0,01$ vs. CTR; *** $p < 0,001$ vs. CTR.

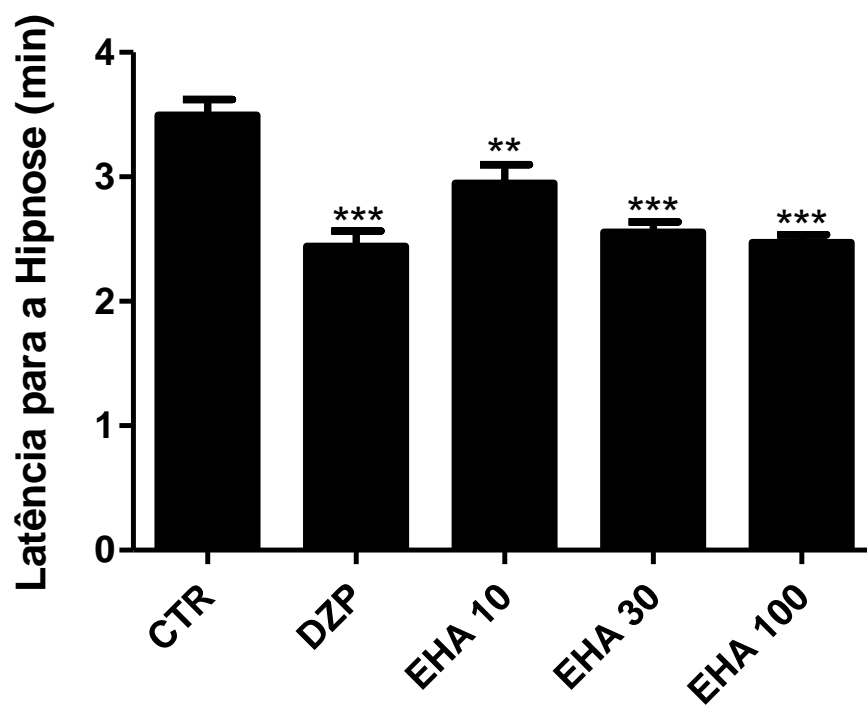
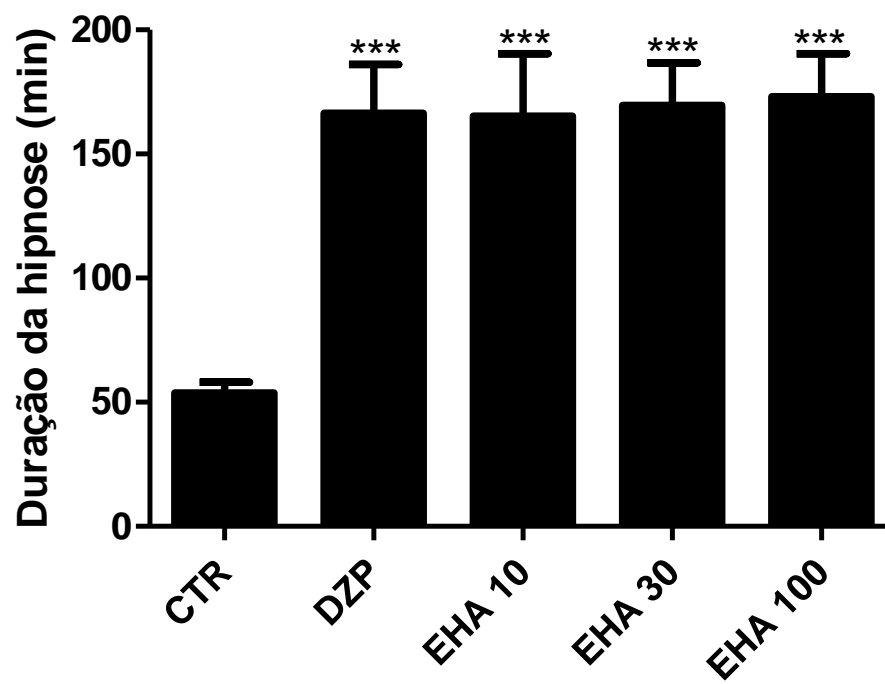
A**B**

Figura 1

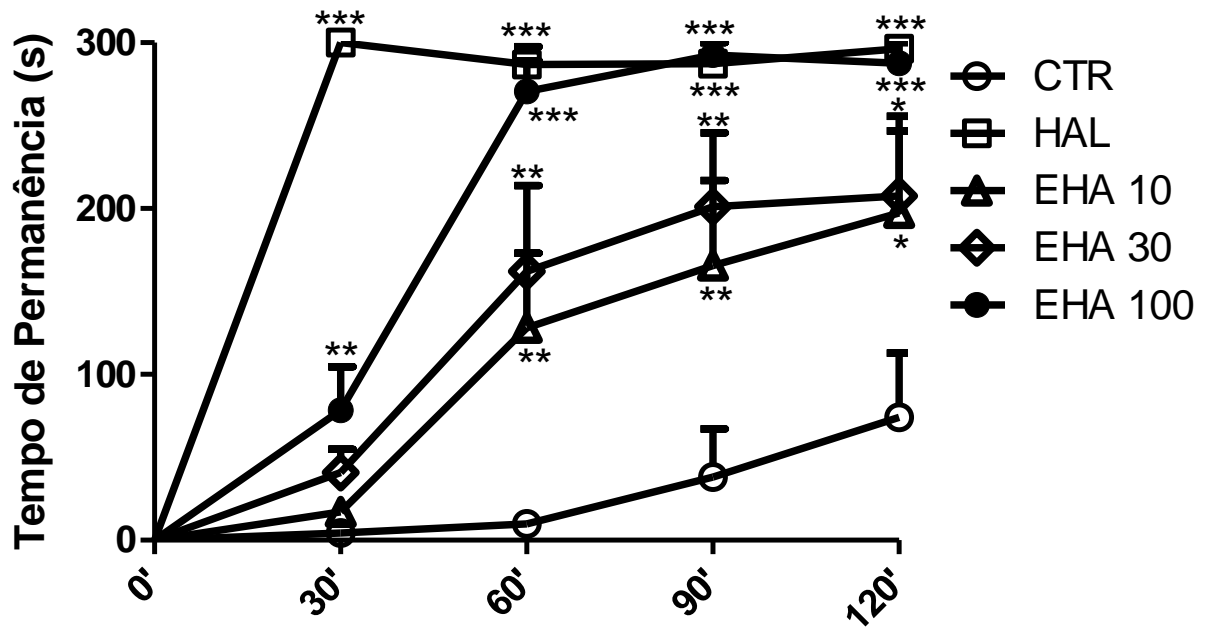
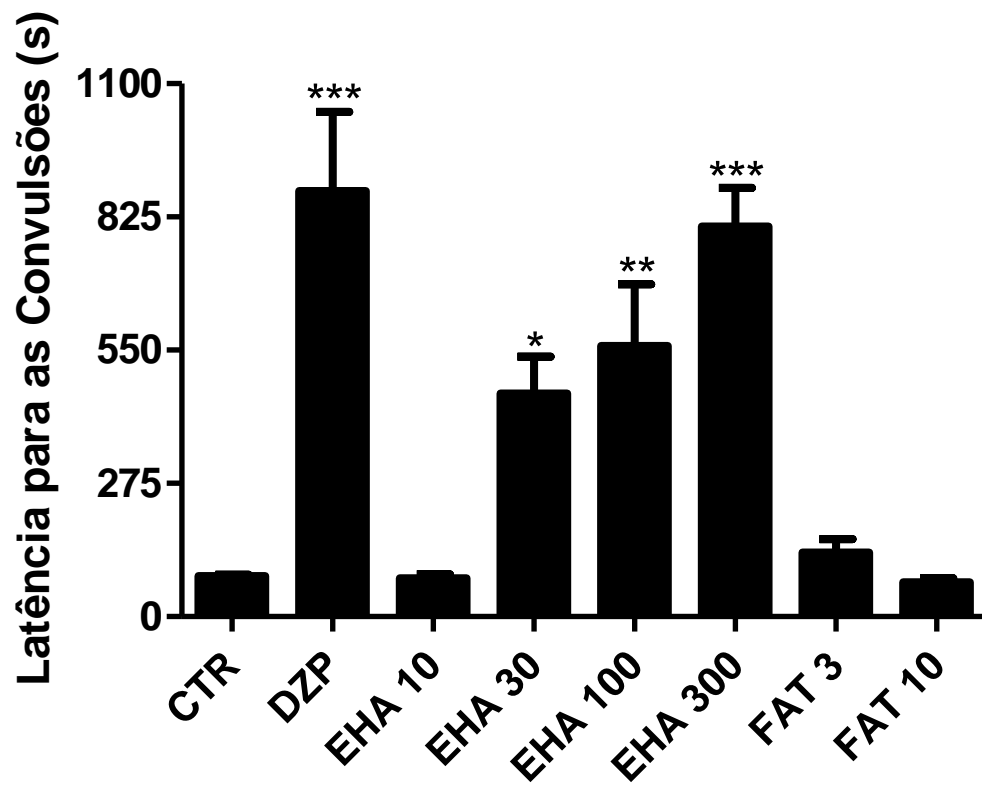
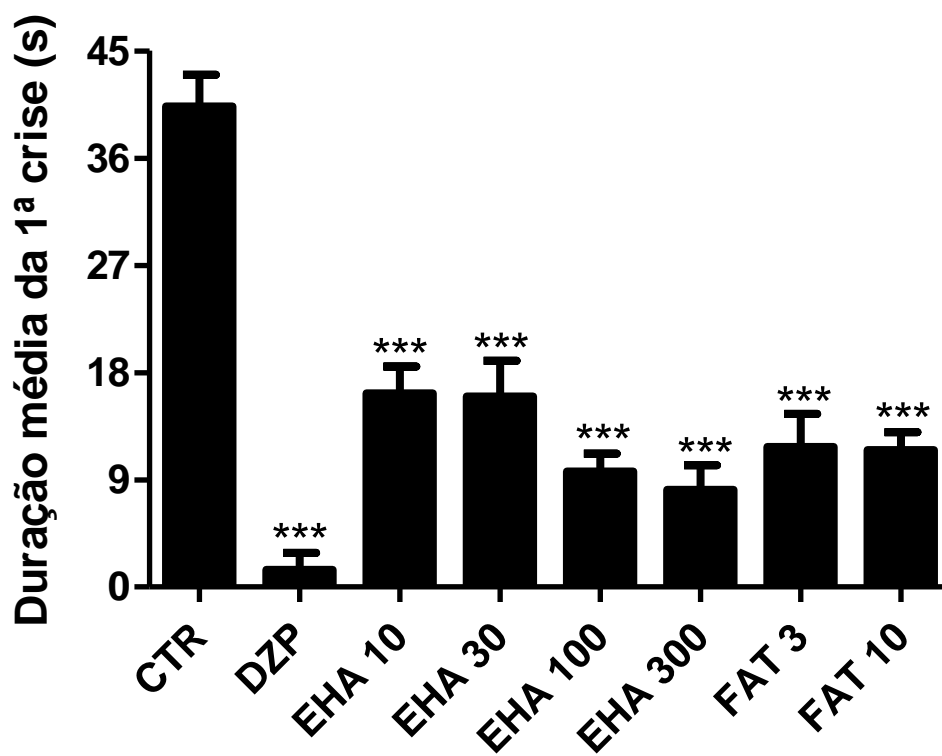


Figura 2

Grupos	Lat. início	Duração	Lat. óbito
CTR	130,1±6,73	14±0,92	144,6±7,19
FEN	173,4±6,56 ***	28,29±2,32 ***	205,7±16,15 ***
EHA 10	98,7±4,12 *	13,71±0,74	113,9±4,64
EHA 30	109,9±12,18	16,43±0,52	108,9±10,67
EHA 100	100,3±4,75 *	16±1,11	115,9±5,07

Tabela 1

A**B**

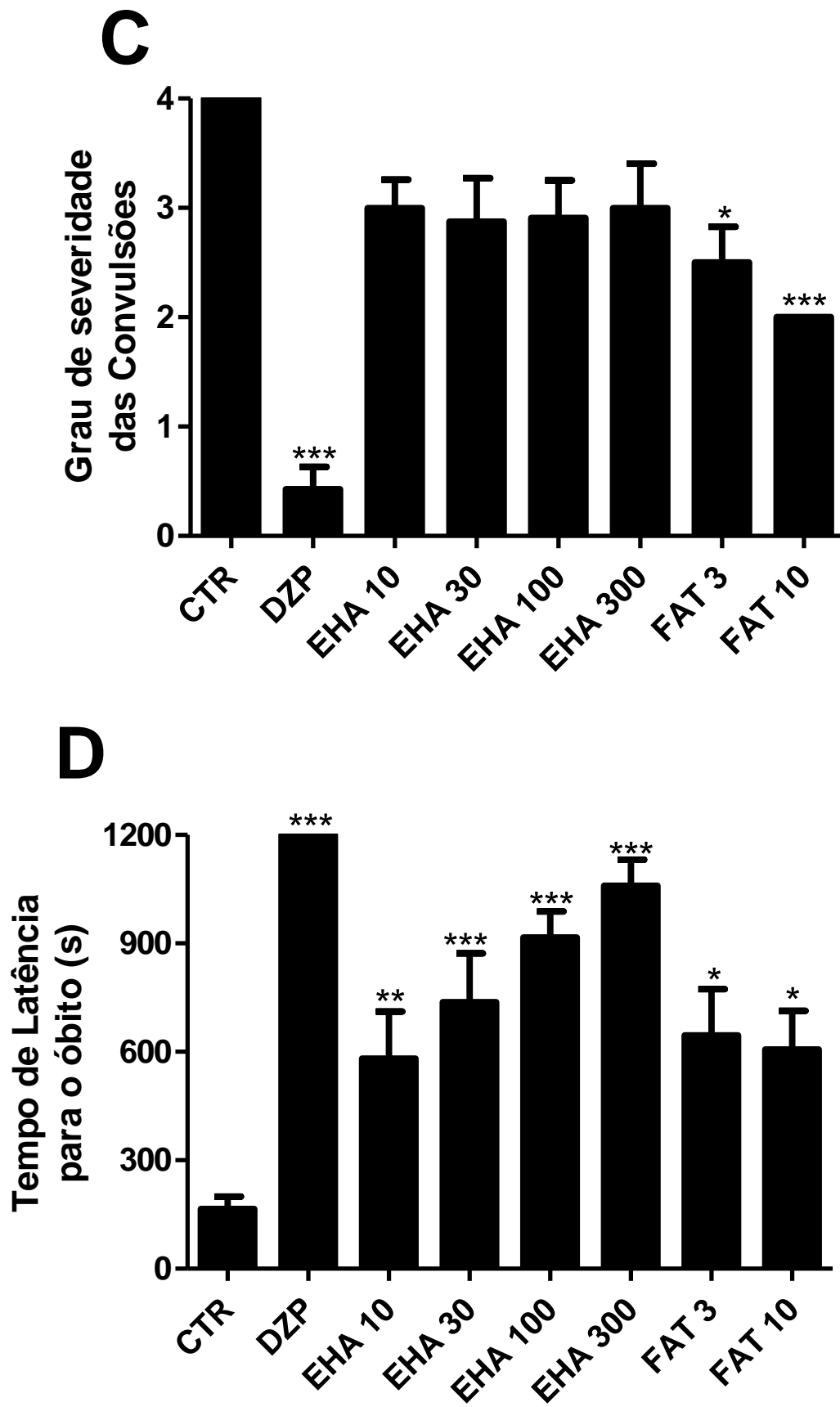


Figura 3

Referências

Adams, M., Gmünder, F., Hamburger, M., 2008. Plants traditionally used in age related brain disorders - A survey of ethnobotanical literature. *Journal of Ethnopharmacology* 113, 363-381.

Akbasa, S.H., Yeginb, A., Ozbenc, T., 2005. Effect of pentilenetetrazol-induced epileptic seizure on the antioxidant enzyme activities, glutathione and lipid peroxidation levels in rat erythrocytes and liver tissues. *Clin. Biochem.* 38, 1009-1014.

Almeida, R.N., De Sousa, D.P., Nóbrega, F.F.F., Claudino, F.S., Araújo, D.A.M., Leite, J.R., Matte, R., 2008. Anticonvulsant effect of a natural compound α,β -epoxycarvone and its actions on the nerve excitability. *Neurosci. Lett.* 443, 51-55.

Amaro, M.S., Filho, S.M., Guimarães, R.M., Teófilo, E.M., 2006. Morphology of janaguba fruit, seed and seedling (*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. – Apocynaceae). *Revista Brasileira de Sementes* 28, 63-71.

Baggio, C.H., Otofujii, G.M., Souza, W.M., Santos, C.A.M., Torres, L.M., Rieck, L., Marques, M.C.A., Mesia-Vela, S., 2005. Gastroprotective mechanisms of indole alkaloids from *Himatanthus lancifolius*. *Planta Medica* 71, 733–738.

Bateson, A.N., 2006. Further potential of the GABA receptor in the treatment of insomnia. *Sleep medicine* 7, 3-9.

Bolzani, V.S., Young, M.C.M., Furlan, M., Cavalheiro, A.J., Araújo, A.R., Silva, D.H.S., Lopes, M.N., 1999. Search for antifungal and anticancer compounds from native plant species of cerrado and Atlantic Forest. *An. Acad. Bras. Cienc.* 71, 181-187.

Botham, P.A., 2004. Acute systemic toxicity-prospects for tiered testings strategies. *Toxicology in vitro* 18, 227-230.

Castillo, D., Arevalo, J., Herrera, F., Ruiz, C., Rojas, R., Rengifo, E., Vaisberg, A., Lock, O., Lemesre, J.L., Gornitzka, H., Sauvain, M., 2007. Spirolactone iridoids might be responsible for the antileishmanial activity of a peruvian traditional remedy made with *Himatanthus sucuuba* (Apocynaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 112, 410–414.

Choudhary, N., Bijjem, K.R.V., Kalia, A.N., 2011. Antiepileptic potential of flavonoids fraction from the leaves of *Anisomeles malabarica*. *Journal of Ethnopharmacology* 135, 238-242.

Colares, A.V., Cordeiro, L.N., Costa, J.G.M., Silveira, E.R., Campos, A.R., Cardoso, A.H., 2008. Phytochemical and biological preliminary study of

Himatanthus drasticus (Mart.) Plumel (Janaguba). *Pharmacognosy Magazine* 4, 73–77.

Di Chiara, G., Morelli, M., Porceddu, M.L., Gessa, G.L., 1978. Evidence that nigral GABA mediates behavioural responses elicited by striatal dopamine receptor stimulation. *Life Sci.* 23, 2045-2051.

Endo, Y., Hayashi, H., Sato, T., Maruno, M., Ohta, T., Nozoe, S., 1994. Confluent acid and 2'-o-methylperlatolic acid, Monoamine Oxidase B inhibitors in a Brazilian plant, *Himatanthus sucuuba*. *Chem. Pharm. Bull* 42, 1198-1201.

Finlay, J.M., DAMSMA, G., FIBIGER, H.C., 1992. Benzodiazepine-induced decreases in extracellular concentration of dopamine in the nucleus accumbens after acute and repeated administration. *Psychopharmacology* 106, 202-208.

Galati, E.M., Miceli, N., Galuzzo, M., Taviano, M.F., Tzakou, O., 2004. Neuropharmacological effects of epinepeltone from *Nepeta sibthorpii* behavioral anticonvulsant activity. *Pharm. Biol.* 42, 391-395.

García-García, P., López-Muñoz, F., Rubio, G., Martín-Agueda, B., Alamo, C., 2008. Phytotherapy and psychiatry: Bibliometric study of the scientific literature from the last 20 years. *Phytomedicine* 15, 566-576.

Gerfen, C.R., 2004. Basal ganglia. In: PAXINOS, G. *The rat nervous system*. Elsevier, 455-508.

Goodman, L.S., Gilman, A, 2010. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Rio de Janeiro: Editora McGraw Hill, p. 1614.

Hosseinzadeh, H., Parvardeh, S., Nassiri-Asl, M., Mansouri, M.T., 2005. Intracerebroventricular administration of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, suppress epileptics seizures in rats. *Med. Sci. Monit.* 11, 106-110.

Houghton, P.J., Howes, M.J., Lee, C.C., Steventon, G., 2007. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualising an elephant. *Journal of Ethnopharmacology* 110, 391-400.

Hsieh, C.L., Tang, N.Y., Chiang, N.Y., Hsieh, C.T., Lin, J.G., 1999. Anticonvulsive and free radical scavenging actions of two herbs, *Uncaria rhynchophylla* (MIQ) Jack and *Gastrodia elata* BL, in kainic acid-treated rats. *Life Sci.* 65, 2071-2082.

Ilhan, A., Gurel, A., Armutcu, F., Kamisli, S., Iraz, M., 2005. Antiepileptogenic and antioxidant effects of *Nigella sativa* oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice. *Neuropharmacolgy* 49, 456-464.

Jufe, G.F., 2009. New hypnotics: perspectives from sleep physiology. *Vertex* 18, 294-299.

Kalueff, A.V., 2007. Mapping convulsants binding to the GABA-A receptor chloride ionophore: A proposed model for channel binding sites. *Neurochemistry International* 50, 61-68.

Katsure, V.S., Katsure, S.B., Chopde, C.T., 2002. Anticonvulsive activity of *Butea monosperma* flowers in laboratory animals. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 72, 965-972.

Kaul, P.N., Kulkarni, S.K., 1978. New drug metabolism inhibitor of marine origin. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 67, 1293-1296.

Kaur, M., Goel, R.K., 2011. Anticonvulsant activity of *Boerhaavia diffusa*: Plausible role of calcium channel antagonism. *Evidence-based complementary and alternative medicine* 2011, 1-8.

Kuigoua, G., Kouam, S., Ngadjui, B., Schulz, B., Green, I., Choudhary, M., Krohn, K., 2009. Minor secondary metabolic products from the stem bark of *Plumeria rubra* Linn. displaying antimicrobial activities. *Planta med* 76, 620-625.

Lancel, M., 1999. Role of GABA_A receptors in the regulation of sleep: initial sleep responses to peripherally administered modulators and agonists. *Sleep* 22, 33-42.

Larson, A.A., Beitz, A.J., 1988. Glycine potentiates strychnine-induced convulsions: role of NMDA receptors. *Journal of Neuroscience* 8, 3822-3828.

Leite, G.D., Penha, A.S., da Silva, G.Q., Colares, A.V., Rodrigues, F.G., Costa, J.G., Cardoso, A.L., Campos, A.R., 2009. Gastroprotective effect of medicinal plants from Chapada do Araripe, Brazil. *Journal of Young Pharmacists* 1, 54-56.

Leung, W.C., Zheng, H., Huen, M., Law, S.L., Xue, H., 2003. Anxiolytic-like action of orally administered dl-tetrahydropalmatine in elevated plus-maze. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatr.* 27, 275-279.

Lorenzi, H., Matos, F.J.A., 2008. *Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas*. Nova Odessa: Plantarum, p. 427.

Löscher, W., 2002. Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research* 50, 105-123.

Lucetti, D.L., Lucetti, E.C., Bandeira, M.A., Veras, H.N., Silva, A.H., Leal, L.K., Lopes, A.A., Alves, V.C., Silva, G.S., Brito, G.A., Viana, G.B., 2010. Anti-inflammatory effects and possible mechanism of action of lupeol acetate isolated from *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. *Journal of inflammation* 7, 1-11.

Mahendran, S., Thippesswamy, B.S., Veerapurb, V.P., Badami, S., 2011. Anticonvulsant activity of embelin isolated from *Embelia ribes*. *Phytomedicine* 18, 186-188.

Mahomed, I.M., Ojewole, J.A.O., 2006. Anticonvulsant activity of *Harpagophytum procumbens* DC [Pedaliaceae] secondary root aqueous extract in mice. *Brain Research Bulletin* 69, 57-62.

Malone, M.H., 1983. The pharmacological evaluation of natural products – general and specific approaches to screening ethnopharmaceuticals. *Journal of Ethnopharmacology* 8, 127-143.

Mishra, N., Oraon, A., Dev, A., Jayaprakash, V., Basu, A., Pattnaik, A.K., Tripathi, S.N., Akhtar, M., Ahmad, S., Swaroop, S., Basu, M., 2010. Anticonvulsant activity of *Benkara malabarica* (Linn.) root extract: In vitro and in vivo investigation. *Journal of Ethnopharmacology* 128, 533-536.

Monforte, M.T., Tzakou, O., Nostro, A., Zimbalatti, V., Galati, E.G., 2011. Chemical composition and biological activities of *Calamintha officinalis* Moench essential oil. *Journal of Medicinal Food* 14, 297-303.

Moreira, D. et al., 2006. Atividades antimicrobiológicas dos extratos e frações obtidos através de solventes orgânicos das cascas de *Himatanthus sukuuba* do vale do Acre. *Anais do XV Seminário de Iniciação Científica PIBIQ-CNPQ, Universidade Federal do Acre, Rio Branco-Acre, Brasil.*

Mousinho, K.C., Oliveira, C.C., Ferreira, J.R.O., Carvalho, A.A., Magalhães, H.I.F., Bezerra, D.P., Alves, A.P.N.N., Costa-Lotufo, L.V., Pessoa, C., Matos, M.P.V., Ramos, M.V., Moraes, M.O., 2011. Antitumor effect of laticifer proteins of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel – Apocynaceae. *Journal of Ethnopharmacology* 137, 421– 426.

Obay, B.D., Tas, D.E., Tümer, C., Bilgin, H.M., Atmaca, M., 2008. Dose dependent effects of ghrelin on pentiletetrazole induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides* 29, 448-455.

Ohno, Y., Imaki, J., Mae, Y., Takahashi, T., Tataru, A., 2011. Serotonergic modulation of extrapyramidal motor disorders in mice and rats: role of striatal 5-HT(3) and 5-HT(6) receptors. *Neuropharmacology* 60, 201-208.

Pal, D., Samanta, K., 2011. CNS activities of ethanol extract of aerial parts of *Hygrophila difformis* in mice. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research* 68, 75-81.

Patil, M.S., Patil, C.R., Patil, S.W., Jadhav, R.B., 2011. Anticonvulsant activity of aqueous root extract of *Ficus religiosa*. *Journal of Ethnopharmacology* 133, 92-96.

Plumel, M.M., 1991. Le genre *Himatanthus* (Apocinaceae). Revisión taxonomique: bradea. *Boletim do Herbarium Bradeanum* 5, 1–20.

Pradilla, G.A., Vesga, B.E.A., 2003. Estudio neuepidemiologico nacional (EPINEURO) colombiano. *Rev. Panam. Salud Publica* 14, 104-111.

Rattmann, Y.D., Terluk, M.R., Souza, W.M., Santos, C.A.M., Biavatti, M.W., Torres, L.B., Mesia-Vela, S., Rieck, L., Silva-Santos, J.E., Marques, M.C.A., 2005. Effects of alkaloids of *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson, Apocynaceae, on smooth muscle responsiveness. *Journal of Ethnopharmacology* 100, 268-275.

Rebouças, S.O., Grivicich, I., Santos, M.S., Rodriguez, P., Gomes, M.D., Oliveira, S.Q., Silva, Ferraz, A.B.F., 2011. Antiproliferative effect of a traditional remedy, *Himatanthus articulatus* bark, on human cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology* 137, 926– 929.

Rodrigues, E., Duarte-Almeida, J.M., Pires, J.M., 2010. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 20, 981-991.

Saper, C.B., Chou, T.C., Scammell, T.E., 2001. The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends in Neurosciences* 24, 726-731.

Sharma, B., Salunke, R., Balomajumder, C., Daniel, S., Roy, P., 2010. Anti-diabetic potential of alkaloid rich fraction from *Capparis decidua* on diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology* 127, 457-62.

Sokal, R.R., ROHLF, F.J., 1996. The principle and practice of statistics. In: _____. *Biological Research. Biometry*. New York: Freeman and company.

Souza, W.M., Stinghen, A.E.M., Santos, C.A.M., 2004. Antimicrobial activity of alkaloidal fraction from barks of *Himatanthus lancifolius*. *Fitoterapia* 75, 750–753.

Swiader, M.J., Porêbiak, J., Swiader, K., Wielosz, M., Czuczwar, S.J., 2006. Influence of cimetidine on the anticonvulsant activity of conventional antiepileptic drugs against pentilenetrazole-induced seizures in mice. *Pharmacol. Rep.* 58, 131-144.

Vasconcelos, S.M., Lima, N.M., Sales, G.T., Cunha, G.M., Aguiar, L.M., Silveira, E.R., Rodrigues, A.C., Macedo, D.S., Fonteles, M.M., Sousa, F.C., Viana, G.S., 2007. Anticonvulsant activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu*. *Journal of Ethnopharmacology* 110, 271-274.

WHO, 2006. Neurological disorders: public health challenges.

Yao, Y., Jia, M., Wu, J.G., Zhang, H., Sun, L.N., Chen, W.S., Rahman, K. 2010. Anxiolytic and sedative-hypnotic activities of polygalasaponins from *Polygala tenuifolia* in mice. *Pharm Biol.* 48, 801-807.

4 CONCLUSÃO

Fundamentado nos dados experimentais obtidos, é possível concluir que:

- ✓ O extrato hidroalcoólico bruto das cascas de *H. drasticus* (EHA) mostrou-se um potente depressor do sistema nervoso central, causando efeitos sedativos e neurolépticos, mesmo em baixas doses;
- ✓ O EHA apresentou um baixo nível de toxicidade;
- ✓ O extrato hidroalcoólico bruto das cascas de *H. drasticus* (EHA) mostrou-se com grande potencial hipnosedativo, de forma bem semelhante ao diazepam (controle positivo);
- ✓ O EHA apresentou baixa toxicidade, sendo considerado seguro para continuação das pesquisas;
- ✓ O EHA demonstrou um potente efeito hipnosedativo em todas as doses testadas de forma dose dependente, de forma semelhante ao diazepam (controle positivo);
- ✓ O EHA apresentou forte efeito neuroléptico de forma dose dependente com exacerbação dos sintomas extrapiramidais, característico a um antipsicótico típico, como o haloperidol (controle positivo utilizado);
- ✓ O EHA não foi capaz de reverter os parâmetros convulsivos analisados no teste de convulsões induzidas por estriçnina, descartando ações anticonvulsivantes do mesmo, relacionadas à inibição glutamatérgica por meio de glicina;

- ✓ O EHA demonstrou eficiente efeito anticonvulsivante e bioprotetor no teste de convulsões induzidas pelo pentilenotetrazol, reforçando a hipótese de mecanismos gaba-miméticos do EHA.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo teve o objetivo de avaliar o efeito do extrato hidroalcoólico de *Himatanthus drasticus* sobre o sistema nervoso central, visto que esta é uma planta de ampla utilização popular para diversos fins e sem dados na literatura sobre seus efeitos neurológicos. Para esta finalidade, utilizou-se um modelo de triagem farmacológica comportamental, visando definir o perfil psicofarmacológico do extrato e suas implicações. Outro propósito foi avaliar a toxicidade de compostos naturais não estudados, que podem trazer para a população riscos de hepatotoxicidade e prejuízos a saúde, quando não utilizados corretamente ou por substituição à medicação convencional.

Várias pesquisas experimentais têm sido realizadas no sentido de comprovar o potencial terapêutico dos produtos naturais ou efeitos colaterais tóxicos das plantas utilizadas pela comunidade para o tratamento de inúmeras doenças, dentre elas as enfermidades neurológicas.

Por fim, sugerimos mais estudos visando desenvolver um fitoterápico coadjuvante no tratamento desses pacientes com, segurança, eficácia e qualidade adequados para melhora de qualidade de vida dos pacientes com estas patologias.

REFERÊNCIAS

ABI-DARGHAM, A.; LARUELLE, M. Mechanism of action of second generation antipsychotics drugs in schizophrenia: insights from brain imaging studies. **Eur Psychiatry**, 20 (1): 15-27, 2005.

ABI-DARGHAM, A.; RODENHISER, J.; PRINTZ, D.; ZEA-PONCE, Y.; GIL, R.; KEGELES, L. S.; WEISS, R.; COOPER, T. B.; MANN, J. J.; VAN HEERTUM, R. L.; GORMAN, J. M.; LARUELLE, M. Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. **Proc Natl Acad Sci USA**, 97: 8104-09, 2000.

ADAMS, M.; GMÜNDER, F.; HAMBURGER, M. Plants traditionally used in age related brain disorders - A survey of ethnobotanical literature. **Journal of Ethnopharmacology**, 113: 363-381, 2008.

AKBASA, S. H.; YEGINB, A.; OZBENC, T. Effect of pentilenetetrazol-induced epileptic seizure on the antioxidant enzyme activities, glutathione and lipid peroxidation levels in rat erythrocytes and liver tissues. **Clin. Biochem.**, 38: 1009-1014, 2005.

ALMEIDA, N. F.; MARI, J. J.; COUTINHO, E. S.; FRANÇA, J. F.; FERNANDES, J. G.; ANDREOLI, S. B. Estudo multicêntrico de morbidade psiquiátrica em áreas urbanas brasileiras (Brasília, São Paulo e Porto Alegre). **Rev ABPAPAL**, 16: 93-104, 1992.

ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: Fundamentos Práticos**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 360 p.

ALMEIDA, R. N.; DE SOUSA, D. P.; NÓBREGA, F. F. F.; CLAUDINO, F. S.; ARAÚJO, D. A. M.; LEITE, J. R.; MATTE, R. Anticonvulsant effect of a natural compound α,β -epoxycarvone and its actions on the nerve excitability. **Neurosci. Lett.**, 443: 51-55, 2008.

AMARO, M. S.; FILHO, S. M.; GUIMARÃES, R. M.; TEÓFILO, E. M. Morphology of janaguba fruit, seed and seedling (*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. – Apocynaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, 28: 63-71, 2006.

ÄNGEHAGEN, M.; BEN-MENACHEM, E.; RONNBACK, L.; HANSSON, E. Novel mechanism of action of three antiepileptic drugs, vigabatrin, tiagabine, and topiramate. **Neurochem Res**, 28 (2): 233-42, 2001.

BAGGIO, C. H.; OTOFUJI, G. M.; SOUZA, W. M.; SANTOS, C. A. M.; TORRES, L. M.; RIECK, L.; MARQUES, M. C. A.; MESIA-VELA, S. Gastroprotective mechanisms of índole alkaloids from *Himatanthus lancifolius*. **Planta Medica**, 71: 733-738, 2005.

BASSIT, D. P. Efeitos colaterais dos antipsicóticos. In: Louzã Neto, M. R.; Elkis, H. (Eds.). **Esquizofrenia: abordagem atual**. São Paulo: Lemos Editorial, 71-107, 1999.

BATESON, A. N. Further potential of the GABA receptor in the treatment of insomnia. **Sleep medicine**, 7: 3-9, 2006.

BELEBONI, R. O.; CAROLINO, R. O. G.; PIZZO, A. B.; BALDAN, L. C.; COTINHO-NETO, J.; SANTOS, W. F.; COIMBRA, N. C. Pharmacological and biochemical aspects of GABAergic neurotransmission: pathological and neuropsychobiological relationships. **Cell Mol Neurobiol**, 24: 707-28, 2004.

BÖHME, I.; LUDDENS, H. The inhibitory neural circuitry as target of antiepileptic drugs. **Curr Med Chem**, 8 (11): 1257-74, 2001.

BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; CAVALHEIRO, A. J.; ARAÚJO, A. R.; SILVA, D.H.S.; LOPES, M. N. Search for antifungal and anticancer compounds from native plant species of cerrado and Atlantic Forest. **An. Acad. Bras. Cienc.**, 71: 181-187, 1999.

BOTHAM, P. A. Acute systemic toxicity-prospects for tiered testings strategies. **Toxicology in vitro**, 18: 227-230, 2004.

CASTILLO, D.; AREVALO, J.; HERRERA, F.; RUIZ, C.; ROJAS, R.; RENGIFO, E.; VAISBERG, A.; LOCK, O.; LEMESRE, J.L.; GORNITZKA, H.; SAUVAIN, M. Spirolactone iridoids might be responsible for the antileishmanial activity of a peruvian traditional remedy made with *Himatanthus sucuuba* (Apocynaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, 112: 410–414, 2007.

CHOUDHARY, N.; BIJJEM, K. R. V.; KALIA, A. N. Antiepileptic potential of flavonoids fraction from the leaves of *Anisomeles malabarica*. **Journal of Ehtnopharmacology**, 135: 238-242, 2011.

COLARES, A. V.; CORDEIRO, L. N.; COSTA, J. G. M.; SILVEIRA, E. R.; CAMPOS, A. R.; CARDOSO, A. H. Phytochemical and biological preliminary study of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (Janaguba). **Pharmacognosy Magazine**, 4: 73–77, 2008.

CZAPINSKI, P.; BLASZCZYK, B.; CZUCZWAR, S. J. Mechanism of action of antiepileptic drugs. **Curr Top Med Chem**, 5: 3-14, 2005.

DI CHIARA, G.; MORELLI, M.; PORCEDDU, M. L.; GESSA, G. L. Evidence that nigral GABA mediates behavioural responses elicited by striatal dopamine receptor stimulation. **Life Sci.**, 23: 2045-2051, 1978.

DUA, T.; BOER, H. M.; PRILIPKO, L. L.; SAXENA, S. Epilepsy care in the word: Results of an ILAE/IBE/WHO global campaign against epilepsy survey. **Epilepsy**, 47: 1225-31, 2006.

ENDO, Y.; HAYASHI, H.; SATO, T.; MARUNO, M.; OHTA, T.; NOZOE, S. Confluent acid and 2'-o-methylperlatolic acid, Monoamine Oxidase B inhibitors in a Brazilian plant, *Himatanthus sucuuba*. **Chem. Pharm. Bull**, 42: 1198-1201, 1994.

FINLAY, J. M.; DAMSMA, G.; FIBIGER, H. C. Benzodiazepine-induced decreases in extracellular concentration of dopamine in the nucleus accumbens after acute and repeated administration. **Psychopharmacology**, 106: 202-208, 1992.

GALATI, E. M.; MICELI, N.; GALUZZO, M.; TAVIANO, M. F.; TZAKOU, O. Neuropharmacological effects of epinephelactone from *Nepeta sibthorpii* behavioral anticonvulsant activity. **Pharm. Biol.**, 42: 391-395, 2004.

GARCÍA-GARCÍA, P.; LÓPEZ-MUÑOZ, F.; RUBIO, G.; MARTÍN-AGUEDA, B.; ALAMO, C. Phytotherapy and psychiatry: Bibliometric study of the scientific literature from the last 20 years. **Phytomedicine**, 15: 566-576, 2008.

GERFEN, C. R. Basal ganglia. In: Paxinos, G. The rat nervous system. **Elsevier**, 455-508, 2004.

GMIRO, V. E.; SERDYUK, S. E. Epinephrine potentiates antipsychotic, but not cataleptogenic effect of haloperidol in rats. **Bull Exp Biol Med**, 143 (5): 617-19, 2007.

GOMES, M. M. Epidemiologia: Distribuição, fatores de risco e considerações prognósticas. In: Guerreiro, C. A. M.; Guerreiro, M. M.; Cendes, F.; Lopes-Cendes, I. (Eds). **Epilepsia**, 3ª Ed. São Paulo: Lemos Editorial & Gráficos Ltda, 11-21, 2000.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. Rio de Janeiro: Editora McGraw Hill, 2010. p. 1614.

GRAEFF, F. G. **Drogas psicotrópicas e seu modo de ação**. 2a ed. São Paulo: Epub, 1999.

GUERREIRO, C. A. M. Considerações gerais. In: Guerreiro, C. A. M.; Guerreiro, M. M.; Cendes, F.; Lopes-Cendes, I. (Eds). **Epilepsia**, 3ª Ed. São Paulo: Lemos Editorial & Gráficos Ltda, 1-10, 2000.

HOSSEINZADEH, H.; PARVARDEH, S.; NASSIRI-ASL, M.; MANSOURI, M. T. Intracerebroventricular administration of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, suppress epileptic seizures in rats. **Med. Sci. Monit.**, 11: 106-110, 2005.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualising an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, 110: 391-400, 2007.

HSIEH, C. L.; TANG, N. Y.; CHIANG, N. Y.; HSIEH, C. T.; LIN, J. G. Anticonvulsive and free radical scavenging actions of two herbs, *Uncaria rhynchophylla* (MIQ) Jack and *Gastrodia elata* BL, in kainic acid-treated rats. **Life Sci.**, 65: 2071-2082, 1999.

ILHAN, A.; GUREL, A.; ARMUTCU, F.; KAMISLI, S.; IRAZ, M. Antiepileptogenic and antioxidant effects of *Nigella sativa* oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice. **Neuropharmacology**, 49: 456-464, 2005.

JUFE, G. F. New hypnotics: perspectives from sleep physiology. **Vertex**, 18: 294-299, 2009.

KALUEFF, A. V. Mapping convulsants binding to the GABA-A receptor chloride ionophore: A proposed model for channel binding sites. **Neurochemistry International**, 50: 61-68, 2007.

KANE, J. M. Extrapiramidal side effects are unacceptable. **Eur Neuropsychopharmacology**, 11 (4): 397-403, 2001.

KATSURE, V. S.; KATSURE, S. B.; CHOPDE, C. T. Anticonvulsive activity of *Butea monosperma* flowers in laboratory animals. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 72: 965-972, 2002.

KAUL, P. N.; KULKARNI, S. K. New drug metabolism inhibitor of marine origin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 67: 1293-1296, 1978.

KAUR, M.; GOEL, R. K. Anticonvulsant activity of *Boerhaavia diffusa*: Plausible role of calcium channel antagonism. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, 2011: 1-8, 2011.

KIRSCH, J. Glycinergic transmission. **Cell Tissue Res**, 326: 535-40, 2006.

KOHL, B. K.; DANNHARDT, G. The NMDA receptor complex: A promising target for novel antiepileptic strategies. **Curr Med Chem**, 8 (11): 1275-89, 2001.

KUIGOUA, G.; KOUAM, S.; NGADJUI, B.; SCHULZ, B.; GREEN, I.; CHOUDHARY, M.; KROHN, K. Minor secondary metabolic products from the stem bark of *Plumeria rubra* Linn. displaying antimicrobial activities. **Planta med**, 76: 620-625, 2009.

LANCEL, M. Role of GABA_A receptors in the regulation of sleep: initial sleep responses to peripherally administered modulators and agonists. **Sleep**, 22: 33-42, 1999.

LARSON, A. A.; BEITZ, A. J. Glycine potentiates strychnine-induced convulsions: role of NMDA receptors. **Journal of Neuroscience**, 8: 3822-3828, 1988.

LEITE, G. D.; PENHA, A. S.; DA SILVA, G. Q.; COLARES, A. V.; RODRIGUES, F. G.; COSTA, J. G.; CARDOSO, A. L.; CAMPOS, A. R. Gastroprotective effect of

medicinal plants from Chapada do Araripe, Brazil. **Journal of Young Pharmacists**, 1: 54–56, 2009.

LEUNG, W. C.; ZHENG, H.; HUEN, M.; LAW, S. L.; XUE, H. Anxiolytic-like action of orally administrated dl-tetrahydropalmatine in elevated plus-maze. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatr.**, 27: 275-279, 2003.

LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2008. p. 427.

LÖSCHER, W. Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. **Epilepsy Research**, 50: 105-23, 2002.

LÖSCHER, W. New visions in the development of antiepileptic drugs: Innovative strategies. **Eur. J. Pharmacol.**, 342: 1-13, 1997.

LÖSCHER, W.; SCHMIDT, D. Which animal model should be used in the search for new antiepileptic drug? A proposal based on experimental and clinical considerations. **Epilepsy Research**, 2: 145-81, 1988.

LUCETTI, D. L.; LUCETTI, E. C.; BANDEIRA, M. A.; VERAS, H. N.; SILVA, A. H.; LEAL, L. K.; LOPES, A. A.; ALVES, V. C.; SILVA, G. S.; BRITO, G. A.; VIANA, G. B. Anti-inflammatory effects and possible mechanism of action of lupeol acetate isolated from *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. **Journal of inflammation**, 7: 1-11, 2010.

MAHENDRAN, S.; THIPPESSWAMYB, B. S.; VEERAPURB, V. P.; BADAMI, S. Anticonvulsant activity of embelin isolated from *Embelia ribes*. **Phytomedicine**, 18: 186-188, 2011.

MAHOMED, I. M.; OJEWOLE, J. A. O. Anticonvulsant activity of *Harpagophytum procumbens* DC [Pedaliaceae] secondary root aqueous extract in mice. **Brain Research Bulletin**, 69: 57-62, 2006.

MALONE, M. H. The pharmacological evaluation of natural products – general and specific approaches to screening ethnopharmaceuticals. **Journal of Ethnopharmacology**, 8: 127-143, 1983.

MARI, J. J.; LEITÃO, R. J. A epidemiologia da esquizofrenia. **Rev Bras Psiquiatr**, 22 (1): 15-17, 2000.

MEINARDI, H.; SCOTT, R. A.; REIS, R.; SANDER, J. W. ILAE Commission on the Developing World. The treatment gap in epilepsy: The current situation and ways forward. **Epilepsia**, 42: 136-49, 2001.

MELDRUM, B. S.; ROGAWSKI, M. A. Molecular targets of antiepileptic drug development. **Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental**, 4: 18-61, 2007.

MELLO, L. E. A. Mecanismos básicos. In: Guerreiro, C. A. M.; Guerreiro, M. M.; Cendes, F.; Lopes-Cendes, I. (Eds). **Epilepsia**, 3ª Ed. São Paulo: Lemos Editorial & Gráficos Ltda, 23-27, 2000.

MELTZER, H. Y. Mechanism of action atypical antipsychotics drugs. In: Davis, K. L.; Charney, d.; Coyle, J. T.; Nemeroff, C. (Eds). **Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 819-831, 2002.

MISHRA, N.; ORAON, A.; DEV, A.; JAYAPRAKASH, V.; BASU, A.; PATTNAIK, A. K.; TRIPAPTHI, S. N.; AKHTAR, M.; AHMAD, S.; SWAROOP, S.; BASU, M. Anticonvulsant activity of *Benkara malabarica* (Linn.) root extract: In vitro and in vivo investigation. **Journal of Ethnopharmacolgy**, 128: 533-536, 2010.

MONCRIEFF, J. Does antipsychotic withdrawal provoke psychosis? Review of the literature on rapid onset psychosis (supersensitivity psychosis) and withdrawal-related relapse. **Acta Psychiatr Scand**, 114: 3-13, 2006.

MONFORTE, M. T.; TZAKOU, O.; NOSTRO, A.; ZIMBALATTI, V.; GALATI, E. G. Chemical composition and biological activities of *Calamintha officinalis* Moench essential oil. **Journal of Medicinal Food**, 14: 297-303, 2011.

MOREIRA, D. et al. **Atividades antimicrobiológicas dos extratos e frações obtidos através de solventes orgânicos das cascas de *Himatanthus succuba* do vale do Acre**. Anais do XV Seminário de Iniciação Científica PIBIQ-CNPQ, Universidade Federal do Acre, Rio Branco-Acre, Brasil, 2006.

MORTARI, M. R.; CUNHA, A. O. S.; FERREIRA, L. B.; SANTOS, W. F. Neurotoxins from invertebrates as anticonvulsants: from basic research to therapeutic application. **Pharmacol Ther.**, 114: 171-83, 2007.

MOUSINHO, K. C.; OLIVEIRA, C. C.; FERREIRA, J. R. O.; CARVALHO, A. A.; MAGALHÃES, H. I. F.; BEZERRA, D. P.; ALVES, A. P. N. N.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C.; MATOS, M. P. V.; RAMOS, M. V.; MORAES, M. O. Antitumor effect of laticifer proteins of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel – Apocynaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, 137: 421– 426, 2011.

NAJIM, I.; YING, Z.; JANIGRO, D. Mechanisms of epileptogenesis. **Neurol Clin**, 19 (2): 237-250, 2001.

NICHOLSON, D.; CHIU, W. Neuroleptic malignant syndrome. **Geriatrics**, 59 (8): 38-40, 2004.

OBAY, B. D.; TAS, D. E.; TÜMER, C.; BILGIN, H. M.; ATMACA, M. Dose dependent effects of ghrelin on pentiletetrazole induced oxidative stress in a rat seizure model. **Peptides**, 29: 448-455, 2008.

OHNO, Y.; IMAKI, J.; MAE, Y.; TAKAHASHI, T.; TATARA, A. Serotonergic modulation of extrapyramidal motor disorders in mice and rats: role of striatal 5-HT(3) and 5-HT(6) receptors. **Neuropharmacology**, 60: 201-208, 2011.

OLSEN, R. W.; DE LOREY, T. M. GABA and glycine. In: Siegel, G. J.; Agranoff, B. W.; Alberts, R. W.; Fisher, S. K.; Uhler, M. D. (Eds). **Basic Neurochemistry**. New York: Lippincott-Raven, 335-46, 1999.

PAL, D.; SAMANTA, K. CNS activities of ethanol extract of aerial parts of *Hygrophila difformis* in mice. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, 68: 75-81, 2011.

PATIL, M. S.; PATIL, C. R.; PATIL, S. W.; JADHAV, R. B. Anticonvulsant activity of aqueous root extract of *Ficus religiosa*. **Journal of Ethnopharmacology**, 133: 92-96, 2011.

PAUL, S. M. GABA and glycine. In: Bloom, F. E.; Kupfer, D. J. (Eds). **Psychopharmacology: The fourth generation of progress**. New York: Raven Press, 879-94, 1995.

PLUMEL, M. M. Le genre *Himatanthus* (Apocynaceae). Revisión taxonomique: bradea. **Boletim do Herbarium Bradeanum**, 5: 1-20, 1991.

PRADILLA, G. A.; VESGA, B. E. A. Estudio neuepidemiologico nacional (EPINEURO) colombiano. **Rev. Panam. Salud Publica**, 14: 104-111, 2003.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; ALMEIDA, J. R. G. S.; LIMA, J. T.; NUNES, X. P.; SIQUEIRA, J.S.; OLIVEIRA, L. E. G.; ALMEIDA, R. N.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plants with anticonvulsants properties – a review. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 18: 798-819, 2008.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; LIMA, J. T.; ALMEIDA, J. R. G. S.; BEDOR, C. N. G.; SILVA JÚNIOR, R. G. C. Animal models evaluation employed anticonvulsant drugs: a review. **Rev. Bras. Farm.**, 88 (4): 163-66, 2007.

RASMUSSEN, K.; HSU, M. A.; YANG, Y. The orexin-1 receptor antagonist SB 334867 blocks the effects of antipsychotics on the activity of A9 and A10 dopamine neurons: implications for antipsychotic therapy. **Neuropsychopharmacology**, 32: 786-92, 2007.

RATTMANN, Y. D.; TERLUK, M. R.; SOUZA, W. M.; SANTOS, C. A. M.; BIAVATTI, M. W.; TORRES, L. B.; MESIA-VELA, S.; RIECK, L.; SILVA-SANTOS, J. E.; MARQUES, M. C. A. Effects of alkaloids of *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson, Apocynaceae, on smooth muscle responsiveness. **Journal of Ethnopharmacology**, 100: 268-275, 2005.

REBOUÇAS, S. O.; GRIVICICH, I.; SANTOS, M. S.; RODRIGUEZ, P.; GOMES, M. D.; OLIVEIRA, S. Q.; FERRAZ, A. B. F. Antiproliferative effect of a traditional remedy, *Himatanthus articulatus* bark, on human cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, 137: 926– 929, 2011.

RODRIGUES, E.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PIRES, J. M. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20: 981-991, 2010.

SAEB-PARSY, K.; ASSOMULL, R. G.; KHAN, F. Z.; KELLY, E. A. **Instant pharmacology**. London: John Willy & Sons, 95-8, 1999.

SAPER, C.B.; CHOU, T.C.; SCAMMELL, T. E. The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. **Trends in Neurosciences**, 24: 726-731, 2001.

SCHILLEVOORT, I.; DE BOER, A.; HERINGS, R. M.; ROOS, R. A.; JANSEN, P. A.; LEUFKENS, H. G. Antipsychotic-induced extrapyramidal syndromes. Risperidone compared with low-and high-potency conventional antipsychotic drugs. **Eur J Clin Pharmacol**. 57 (4): 327-31, 2001.

SHARMA, B.; SALUNKE, R.; BALOMAJUMDER, C.; DANIEL, S.; ROY, P. Anti-diabetic potential of alkaloid rich fraction from *Capparis decidua* on diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, 127: 457-62, 2010.

SMITH, M.; WILCOX, K. S.; WHITE, H. S. Discovery of antiepileptic drugs. **Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental**, 4: 12-17, 2007.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The principle and practice of statistics. In: _____. **Biological Research Biometry**. New York: Freeman and company, 1996.

SOUZA, W. M.; STINGHEN, A. E. M.; SANTOS, C. A. M. Antimicrobial activity of alkaloidal fraction from barks of *Himatanthus lancifolius*. **Fitoterapia**, 75: 750–753, 2004.

SWIADER, M. J.; PORÊBIAK, J.; SWIADER, K.; WIELOSZ, M.; CZUCZWAR, S. J. Influence of cimetidine on the anticonvulsant activity of conventional antiepileptic drugs against pentilenetrazole-induced seizures in mice. **Pharmacol. Rep.**, 58: 131-144, 2006.

TARSY, D.; BALDESSARINI, R. J.; TARAZI, F. I. Effects of newer antipsychotics on extrapyramidal function. **CNS Drugs**, 16 (1): 23-45, 2002.

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

WESTBROOK, G. L. Seizures and epilepsy. In: Kandel, E. R.; Schwartz, J. H.; Jessel, T. M. (Ed). **Principles of neural science**, 4^a Ed [S.I]: McGraw Hill, 911, 2000.

WONG, C. H. A.; VAN TOL, H. H. M. Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 27: 269-306, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Neurological disorders: public health challenges**. Geneva: WHO, Switzerland, 2006.

YAO, Y.; JIA, M.; WU, J. G.; ZHANG, H.; SUN, L. N.; CHEN, W. S.; RAHMAN, K. Anxiolytic and sedative-hypnotic activities of polygalasaponins from *Polygala tenuifolia* in mice. **Pharm Biol.**, 48: 801-807, 2010.