

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO DE MEDICINA
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DOS EFEITOS DO
EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DA
Hyptis fruticosa Salzm. (ex) Benth. NO SISTEMA
NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS**

EDNA ARAGÃO FARIAS CÂNDIDO

Aracaju, 2006

EDNA ARAGÃO FARIAS CÂNDIDO

**CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DOS EFEITOS DO
EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DA
Hyptis fruticosa Salzm. (ex) Benth. NO SISTEMA
NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada como requisito para
conclusão ao Mestrado em Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Sergipe- SE.

ORIENTADOR PROF. DR. MURILO MARCHIORO

Aracaju, 2006

C217c Cândido, Edna Aragão Farias
Caracterização Parcial dos Efeitos do Extrato Hidroalcoólico das Folhas da
Hyptis Fruticosa Salzm. (ex) Benth. no Sistema Nervoso Central de
Camundongos.
Orientador: Dr. Murilo Machioro.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) Universidade Federal de
Sergipe, Pró-Reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, Núcleo de Pós-
graduação em Medicina.

1. *Hyptis fruticosa* (Alecrim) 2. Toxicidade aguda 3. Efeito
anticonvulsivante 4. Efeito sedativo/hipnótico 5. Efeito antinociceptivo I.
Título.

CDU 582.949.22

EDNA ARAGÃO FARIAS CÂNDIDO

**CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DOS EFEITOS DO
EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DA
Hyptis fruticosa Salzm. (ex) Benth. NO SISTEMA
NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS**

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Murilo Marchioro
Orientador

Prof. Dr. Lauro Xavier Filho
Avaliador

Prof. Dr. Alexandre Luna Cândido
Avaliador

Aracaju, 2006

DEDICATÓRIA

Aos meus filhos Janaína e Luis Henrique, motivo de
minha luta para um futuro melhor!

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é dedicado primeiramente a Deus, Ser Supremo que muito me tem abençoado;

Aos meus pais amados Mirandolino e Floracy, que em semelhança ao filho do pai eterno; me ensinaram que a vida é muito mais que vencer, é ser companheira e irmã;

À minha família: meus filhos Janaína e Luis Henrique, razões de minha vida... Ao meu esposo amado Luis Luciano cúmplice, companheiro e torcedor deste trabalho. Vocês são co-autores deste trabalho;

Ao meu Mestre, Professor Dr. Murilo Marchioro, que com sua sabedoria, paciência e dedicação contribuiu muito com este trabalho. Obrigado pelos ensinamentos e orientações de grande valia;

À Universidade Tiradentes, disponibilizando-me no que fosse preciso para a conclusão deste trabalho;

Aos colegas do mestrado que juntos partilharam com esta conquista e construção;

Ao aluno de Medicina Marcel que me auxiliou em uma parte deste trabalho;

E a equipe do Mestrado em Ciências da Saúde.

Deus os abençoe por tudo que fizeram por mim!

EPÍGRAFE

Não acredite na voz do comodismo e da negação dentro de si: lute por seus sonhos (ainda que precise reformulá-los ou mudá-los de feição ou endereço). Quem se vence, pode vencer o mundo. Quem não conhece vitória sobre si, não conseguirá nada nunca, que seja efetivo, que dure verdadeiramente, que transforme profundamente, que felicite integralmente.

Benjamin Teixeira

RESUMO

O presente trabalho trata de um estudo sobre os efeitos fitoterápicos do extrato hidroalcoólico das folhas da *Hyptis fruticosa*. Planta típica do nordeste do Brasil utilizada como aromatizante e descongestionante, provavelmente, de Araújo e colaboradores, 1974, foram os primeiros a relatar estudo dos extratos metanólicos extraídos das raízes da planta, com atividade antimicrobiana e antineoplásica. A dor, a insônia e a epilepsia são transtornos que afligem as pessoas na sociedade, principalmente a dor, causando prejuízos pessoais e socioeconômicos. O objetivo principal deste estudo é caracterizar parcialmente os efeitos do extrato hidroalcoólico das folhas da *Hyptis fruticosa* Salzm. (ex) Benth. no sistema nervoso central de camundongos; tendo como objetivos específicos determinar a toxicidade aguda (DL50); evidenciar efeito convulsivante e sedativo/hipnótico; e mensurar efeitos antinociceptivos em camundongos. Essa pesquisa é do tipo experimental utilizando os teste de toxicidade aguda nas doses 1, 2, 3, 4 e 5 gramas; os testes de convulsão induzida por pentilenotetrazol, 60mg/Kg i.p., sono induzido por tiopental sódico, 60mg/Kg i.p., contorção abdominal induzida por ácido acético a 6% e teste "Tail-flick". Os animais utilizados foram camundongos do tipo Swiss. Os dados obtidos foram analisados pela ANOVA, valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Em relação aos resultados foi demonstrado que o extrato é de baixa toxicidade. No teste de convulsão induzida por pentilenotetrazol houve pequeno aumento na latência para o início da 1ª convulsão e para a morte. Em relação a ANOVA nos testes quanto a recuperação do reflexo de endireitamento no sono induzido por tiopental, contorção abdominal por ácido acético e nocicepção térmica, os mesmos revelaram significância com $p < 0,0001$. Conclui-se desta forma que o extrato das folhas da *Hyptis fruticosa* Salzm. (ex) Benth. apresenta efeito antinociceptivo no sistema nervoso central e

periférico e pequena sedação, porém, sem nenhuma atividade anticonvulsivante. Sugere-se estudos mais detalhados para maiores esclarecimentos.

Palavras chave: *Hyptis fruticosa* Salzm. (ex) Benth.; toxicidade aguda; efeito anticonvulsivante; efeito sedativo/hipnótico; efeito antinociceptivo.

ABSTRACT

This present study is about the phytotherapeutic effects of the hydroalcoholic extracted from the *Hyptis fruticosa* leaves. Typical plant from the northeast of Brazil used as an aromatizer and discongestizer. Probably, de Araújo et. al., 1974, were the first ones to study and describe the studies of the methanolic extracts from the roots of this plant, that contains antimicroorganism and antineoplastic activity. Pain, insomnia and epilepsy are disturbs that attack people in our society, specially pain, causing personal and socioeconomic problems. The main objective of this study is to describe partially the effects of the hydroalcoholic extracted from the *Hyptis fruticosa* Salzm. (ex) Benth. leaves in the nervous central system of mice. Having as specific objectives: to determine the acute toxicity (DL50); to evidence the anticonvulsant and sedative/hypnotic effects; to measure the antinociceptive effects in mice. This is an experimental search using acute toxicity test in the doses 1, 2, 3, 4 and 5 grams; pentylenetetrazole-induced convulsion, 60mg/Kg i.p.; pentobarbital-induced sleep, 60mg/Kg i.p.; writhing-induced by acetic acid 6% and tail-flick test. The animals used were the swiss type mice. The data obtained were analysed by ANOVA, the $p < 0,05$ values were considered significant. According to the results, it was demonstrated that the extract has low toxicity; the pentylenetetrazole-induced convulsion showed a latency low increase for the beginning of the 1st convulsion and the death; The ANOVA showed significance with $p < 0,0001$ at the return of the righting reflex on the sleep-induced by tiopental, writhing-induced by acetic acid and thermal nociceptive stimulation. Is possible to conclude, this way, that the hydroalcoholic extract of *Hyptis fruticosa* leaves has antinociceptive effects on the central and peripheral nervous system and low sedative, however, without any anticonvulsant activity. For more informations, studies with more details is suggested.

Key words: *Hyptis fruticosa* Salzm. (ex) Benth.; acute toxicity; anticonvulsant effect; sedative/hypnotic effect; antinociceptive effect.

LISTAS

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: <i>Hyptis fruticosa</i> Salzm. (ex) Benth.	22
FIGURA 2: cadastro da <i>Hyptis fruticosa</i> Salzm. (ex) Benth.	22
FIGURA 3: Vias ascendentes e descendentes.....	38
FIGURA 4: Ciclo sono-vigília com participação das substâncias transmissoras monoaminérgias.....	42
FIGURA 5: Comparativo das médias das latências em minutos para o início e morte em convulsões induzidas por PTZ tratados com E.H.da <i>H. fruticosa</i> (i. p.) em camundongos.....	50
FIGURA 6: Comparativo do efeito hipnótico/sedativo do E.H. da <i>H. fruticosa</i> (i. p.) quanto à latência para o início do sono induzido por tiopental em camundongos...	51
FIGURA 7: Comparativo do efeito hipnótico/sedativo do E.H. da <i>H. fruticosa</i> (i. p.) na duração do tempo de sono induzido por tiopental em camundongos.....	51
FIGURA 8: Efeito antinocicepção do E.H.da <i>H. fruticosa</i> (i. p.) e morfina (i.p.) pelo número de contorções no teste de contorção abdominal induzido por ácido acético (6%) em camundongos.....	52
FIGURA 9: Tempo de latência para a nocicepção dos camundongos tratados em 30' com E.H. da <i>H. fruticosa</i> no teste Tail-flick.....	54
FIGURA 10: Tempo de latência para a nocicepção dos camundongos tratados em 60' com E.H. da <i>H. fruticosa</i> no teste Tail-flick.....	54
FIGURA 11: Tempo de latência para a nocicepção dos camundongos tratados em	

90' com E.H. da <i>H. fruticosa</i> no teste Tail-flick.....	55
FIGURA 12: Tempo de latência para a nocicepção dos camundongos tratados em 120' com E.H. da <i>H. fruticosa</i> no teste Tail-flick.....	55
FIGURA 13: Evolução temporal do efeito da morfina sobre a latência para retirada da cauda no teste Tail-flick.....	56

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Comparativo e porcentagem da média do número de convulsões induzida por PTZ tratados com o E.H. da <i>H. fruticosa</i> em camundongos..	50
TABELA 2: Efeito da antinocicepção do EH da <i>H. fruticosa</i> (i. p.) e morfina (i.p.) contados em porcentagem (%) de inibição no teste de contorção abdominal induzido pelo ácido acético em camundongos.....	53

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO.....	16
1. FITOTERAPIA.....	17
2. GÊNERO.....	20
3. ESPÉCIE: <i>Hyptis fruticosa</i>	20
4. CARACTERIZAÇÃO DA PLANTA.....	21
5. INFLUÊNCIAS FARMACOLÓGICAS DAS PLANTAS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL.....	23
6. TRANSMISSÃO SINÁPTICA.....	23
7. RECEPTORES SINÁPTICOS.....	25
7.1. Receptores Ionotrópicos.....	25
7.2. Receptores Metabotrópicos.....	25
8. NEUROTRANSMISSORES.....	26
8.1. TIPOS DE NEUROTRANSMISSORES E SEUS RECEPTORES.....	27
8.1.1. Ácido γ -aminobutírico (GABA)	27
8.1.2. Serotonina (5-HT)	29
8.1.3. Neuropeptídeos.....	29
8.2. Agonistas e antagonistas dos neurotransmissores.....	32
9. NEURÔNIOS SOMATO-SENSORIAIS PERIFÉRICOS.....	33
10. TRANSMISSÃO DA INFORMAÇÃO NOCICEPTIVA.....	33
11. VIAS ASCENDENTES.....	35
11.1. Trato espinotalâmico.....	35
11.2. Trato espinoreticular.....	36

11.3. Trato espinomesencefálico.....	36
11.4. Trato cervicotalâmico.....	36
11.5. Trato espinohipotalâmico.....	36
12. VIAS DESCENDENTES.....	37
13. BASES BIOQUÍMICAS DA NOCICEPÇÃO E ANTINOCICEPÇÃO.....	39
13.1. Nas Vias Ascendentes.....	39
13.2. Nas Vias Descendentes.....	40
14. NEUROFISIOLOGIA E BASES BIOQUÍMICAS DA SEDAÇÃO E HIPNOSE.....	40
15. EPILEPSIA.....	42
II. OBJETIVOS.....	44
Geral.....	44
Específicos.....	44
III. MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
1. MATERIAL BOTÂNICO.....	45
2. ANIMAIS.....	45
3. COMITÊ DE ÉTICA PARA EXPERIMENTO ANIMAL.....	45
4. OBTENÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO.....	46
6. DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DL ₅₀	46
7. PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	46
7.1. Teste Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol.....	46
7.2. Teste Sono Induzido por Barbtúrico.....	47
7.3. Teste Contorção Abdominal induzida por Ácido acético (6%).....	47
7.4. Teste de Tail-Flick.....	48
8. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	48

IV. RESULTADOS.....	49
1. TOXICIDADE AGUDA DL ₅₀	49
2. TESTE CONVULSÃO INDUZIDA PELO PENTILENOTETRAZOL.....	49
3. TESTE SONO INDUZIDO POR BARBTÚRICO.....	51
4. TESTE CONTORÇÃO ABDOMINAL INDUZIDA POR ÁCIDO ACÉTICO (6%).....	52
5. TESTE TAIL-FLICK.....	53
V. DISCUSSÃO.....	57
VI.CONCLUSÃO.....	62
VII. REFERÊNCIAS.....	63
VIII. APÊNDICE A.....	75

I. INTRODUÇÃO

A dor central ou periférica, a insônia e a epilepsia são alguns transtornos do sistema nervoso que afligem pessoas comuns e doentes na sociedade, principalmente a dor que é um sintoma universal, considerada como um problema que acarreta sérios prejuízos pessoais e socioeconômicos, limitando as atividades de trabalho, convivência familiar e vida social.

No Brasil, Rossetto (1999), em pesquisa epidemiológica da dor em crianças, adultos e idosos, relata que, provavelmente, 50% das consultas médicas são vinculadas à dor crônica e que 50% dos doentes que convivem com ela podem tornar-se incapacitados, demonstrando a importância de medidas para seu controle e tratamento.

A comunidade científica apresenta consenso em opinar que os vegetais possuem efeitos farmacológicos em vários sistemas, principalmente no Sistema Nervoso, justificando estudos minuciosos. Dessa forma, faz-se necessário realizar estudos completos e sofisticados com os produtos, pois cada um deles pode ter ação no laboratório, diferentemente da observada no organismo humano, estimulando pesquisadores das ciências médicas iniciarem experimentos que envolvam animais menores, a exemplo dos camundongos que apresentam semelhança do sistema nervoso com a do ser humano e exigem menores doses de compostos fitoterápicos.

No Brasil, são estudadas 402 espécies de plantas utilizadas como medicamentos. Dessas 138 parecem ter alguma ação sobre o sistema nervoso a exemplo da *Erythrina velutina* que apresenta efeito depressor no sistema nervoso central (MARCHIORO, et al. 2005). Relata Padilla (1999, 87p.) ser as culturas nativas brasileiras as culturas que faziam uso dessa prática de forma tradicional e empírica.

Em Sergipe é comum à utilização de forma rotineira de plantas no tratamento fitoterápico de doenças (MORENO et al., 2005), podendo ser citadas como bons exemplos às espécies *Hyptis pectinata* (sambacaitá), *Sida cordifolia* (malva branca), *Erythrina velutina* (mulungu) e *Hyptis fruticosa* (alecrim).

Nesse sentido, o Grupo de Pesquisa em Produtos Naturais da Universidade Federal de Sergipe (UFS), vem, há mais de cinco anos, desenvolvendo trabalhos, com o objetivo de validar cientificamente o uso dessas espécies vegetais. Na intenção de, futuramente, serem transformados em medicamentos fitoterápicos de baixo custo, a serem distribuídos através da rede pública de saúde, especialmente para as populações mais carentes. Exemplo de estudos nesse sentido, já está sendo desenvolvido desde 2005 com pesquisas sobre o efeito da planta *Erythrina velutina* (mulungu) na memória humana.

Outra planta estudada é a *Hyptis pectinata* que foi observada atividade antimicrobial e citotóxica por Pereda-Miranda et. al. (1993); efeito de proliferação de hepatócitos regenerando o fígado realizado por Silva et. al. (2002); constituintes químicos e efeito antinociceptivo e antiedematogênico (ALVES et. al., 2003); sensibilidade da *stafilococcus aureus* ao pectinolide H (FRAGOSO-SERRANO et. al, 2005) e aceleração regenerativa de células hepáticas potencializadas pela Laserterapia desenvolvida por Melo et al (2005) e a *Sida cordifolia* (malva branca) apresentando atividade antinociceptiva; antiedematogênica e toxicidade aguda Franzotti et. al. (2000).

1. FITOTERAPIA

O homem vem utilizando os vegetais para diversos propósitos durante os séculos. As ervas podem possuir características indesejáveis, uma vez que constituem produtos de estruturas complexas (YUNES, 2001, 32p.) com grande poder de metabolismo secundário,

naturalmente desenvolvido pela seleção natural, no esforço de proteção dessas plantas contra parasitas e predadores, tais como insetos e outros animais que se utilizam delas para se alimentar (SILVA, 2002, 134p.).

A planta medicinal é administrada com fins farmacológicos, porém no início, essa busca do conhecimento sobre as vantagens das plantas era por meio de tentativa e erro. A capacidade curativa veio ao acaso, possibilitando a sistematização desde então, tendo como primeiro relato do estudo sistematizado, datado em 2.700 a.C. (SILVA, 2002, 134p.).

A fitoterapia, também conhecida como medicina alternativa ou medicina popular é mundialmente responsável pela forma mais comum de tratamento de doenças e, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% das populações dos países em desenvolvimento utilizam esse tipo de terapia. Como consequência, é cada vez maior o número de medicamentos produzidos a partir dessa ciência nestes últimos 20 anos, com grande espaço comercial e maior contribuição científica vinda das pesquisas dos países orientais (YUNES, 2001, 20 p.; SILVA, 2002, 135p.).

As florestas tropicais, por serem ricas em sua biodiversidade, são detentores das maiores fontes de novos e potenciais fármacos a serem utilizados na medicina moderna. Dentre as espécies vegetais existentes, 250 a 500 mil, apenas 15% demonstraram efeito específico (SILVA, 2002, 140p.). Dessa forma, a indústria farmacêutica investe maciçamente em sistemas de “screening” de alta escala (YUNES, 2001, 78p.). Apresentando os fitoterápicos diferenças importantes entre si, em que uns demonstraram eficácia comprovada por ensaios clínicos controlados através de estudos: comparativo com placebo, duplo cego, randomizado; e metáanalises, enquanto que em outros fitoterápicos, a exemplo da *Passiflora edulis*, não foi encontrado nenhum estudo controlado divulgado nas literaturas indexadas em fontes, como Medline, Lilacs, ISI-Current Contentes (ANDREATINI, 2000, 104-5p.).

Com o empirismo não-científico, quase todos os povos utilizam ervas e plantas para algum tipo de tratamento das doenças. Já na Idade Antiga, percebeu-se a relação dose-efeito delas, porém na Renascença, na Europa Meridional, as plantas estavam associadas aos ritos de magia negra (SILVA, 2002, 134p.).

No final do século XVIII e princípio do XIX, com o advento da química foram iniciadas as pesquisas químicas aos fitoterápicos cujos recursos experimentais eram bastante limitados. Em 1803, Setümer isola a morfina da *Papaver sammiferum*, e apenas em 1925 é que sua fórmula estruturada foi proposta por Robson. O renascimento da utilização dos vegetais em pesquisas clínicas produziu conhecimentos culturais botânicos destinados às pesquisas das plantas e fitoterápicos, com o objetivo de produzir medicamentos com importância econômica na produção de novos fármacos sintéticos (YUNES, 2001, 31p.; SILVA, 2002, 135p.)

O reconhecimento oficial de “Planta medicinal” foi conquistado com a 31ª Assembléia da OMS. O registro de Medicamentos Fitoterápicos só foi conseguido em 24 de fevereiro de 2000, com a Resolução-RDC nº.17, onde é regimentada a utilização exclusiva de matérias-primas vegetais com propósitos profiláticos, curativos, paliativos ou de diagnósticos, sendo considerada matéria-prima vegetal só aquela advinda da planta fresca quer seja como extrato, tintura, óleo, cera, suco etc, o que torna a padronização dos fitoterápicos complexa, em decorrência dos resultados, pois depende da combinação da mistura dos constituintes da planta não reconhecidos, ficando apenas baseada na concentração do princípio ativo único ou pela substância marcadora presente em um extrato concentrado, determinando, assim, a quantidade adequada e uma resposta uniforme (SILVA, 2002, 135p.).

2. GÊNERO: *HYPTIS*

O gênero *Hyptis* é um dos 220 tipos descritos da família *Lamiaceae* e 350 espécies, potencialmente exploráveis (ALMEIDA; ALBURQUERQUE, 2002; PAULA et al. 2005; RESENDE, 2005). A família *Lamiaceae* é bastante abundante na região do Mediterrâneo, porém, na América, é potencialmente explorada (ALMEIDA; ALBURQUERQUE, 2002, 343-353p).

Os estudos e descrições dessa espécie, em diferentes laboratórios, mostraram seus principais efeitos medicinais: atividade antimicrobiana (De ARAÚJO et al, 1974, 101p.; ROJAS et al, 1992, 275p.; PEREDA-MIRANDA et al, 1993, 583p.), inseticida, tratamento gastrointestinal e infecções dermatológicas (FRAGOSO-SERRANO, 1999, 45p.), anticancerígena (De ARAÚJO et al, 1974, 102p.; LEE et al, 1988, 308p.; NOVELO et al, 1993, 1728p.), antiinflamatória (KUHNT et al, 1995, 227p.), agente anti-HIV (KASHIWADA, 1998, 1090p.; MATSURE, 1999, 15p.).

O Brasil, por apresentar em sua rica flora vários tipos de ervas, tem como prática o uso dessa fitoterapia nas classes sociais mais baixas, principalmente para alguns vegetais, como é o caso do gênero *Hyptis*. Especificamente no Nordeste, há o reconhecimento de novas espécies desse gênero, no Estado da Bahia. Harley em 1995 e 1996 faz grande contribuição nesse sentido (ALMEIDA; ALBUQUERQUE, 2002, 343p.).

3. ESPÉCIE: *Hyptis fruticosa*

A *Hyptis fruticosa*, no Brasil, é utilizada com frequência como aromatizante, De Araújo e colaboradores (1974), provavelmente, foram os primeiros a relatar estudo dos extratos metanólicos extraídos das raízes da planta, tendo como resultado inicial atividade antimicrobiana, com inibição da ação de germes Gram-positivos, Gram-negativos e ácido-

resistentes; e posteriormente resultado referente a atividade antineoplásica, em relação ao carcinoma de Erlich, na forma cística, obtiveram-se 90,3% de inibição das células tumorais e, para o sarcoma 180, em camundongos albinos suíços, uma atividade de 49,6%. Oliveira (1997), em dissertação de mestrado, apresenta a ecofisiologia da mesma.

Em trabalhos preliminares, inicialmente, foi caracterizada como *Lipia mycrophila*, por Dantas et. al. (2001), Cambuí et. al. (2002), Santos et. al. (2002). Após estudo taxonômico, foi confirmada por especialistas do gênero como sendo da espécie *Hyptis fruticosa*. Apesar de ser coletada há décadas, apresenta poucos relatos científicos em sua comprovação fitomedicinal. Os resultados sobre a planta, ainda com a identificação de *Lippia microphilla*, foram apresentados por Dantas et. al., em 2001, com possíveis propriedades anticonvulsivantes, e por Cambuí et. al. Em 2002, com prováveis propriedades analgésicas, porém, em Sergipe, é utilizada para bronquite e outros problemas respiratórios.

4. CARACTERIZAÇÃO DA PLANTA

Segundo descrição do “New York Botanical Garden”, é uma planta de arbusto alto, verde-musgo, com flores azul-lilás e aromatizantes. Essa espécie catalogada por R. M. Harley, em 1996, teve origem de vários locais do Nordeste. A espécie coletada em Sergipe, descrita no “New York Botanical Garden, foi coletada do Município de Indiaroba, (FIG. 1), latitude 11° 30’ 36” s e longitude de 37° 30’ 36” WGr (THE NEW..., 2004).

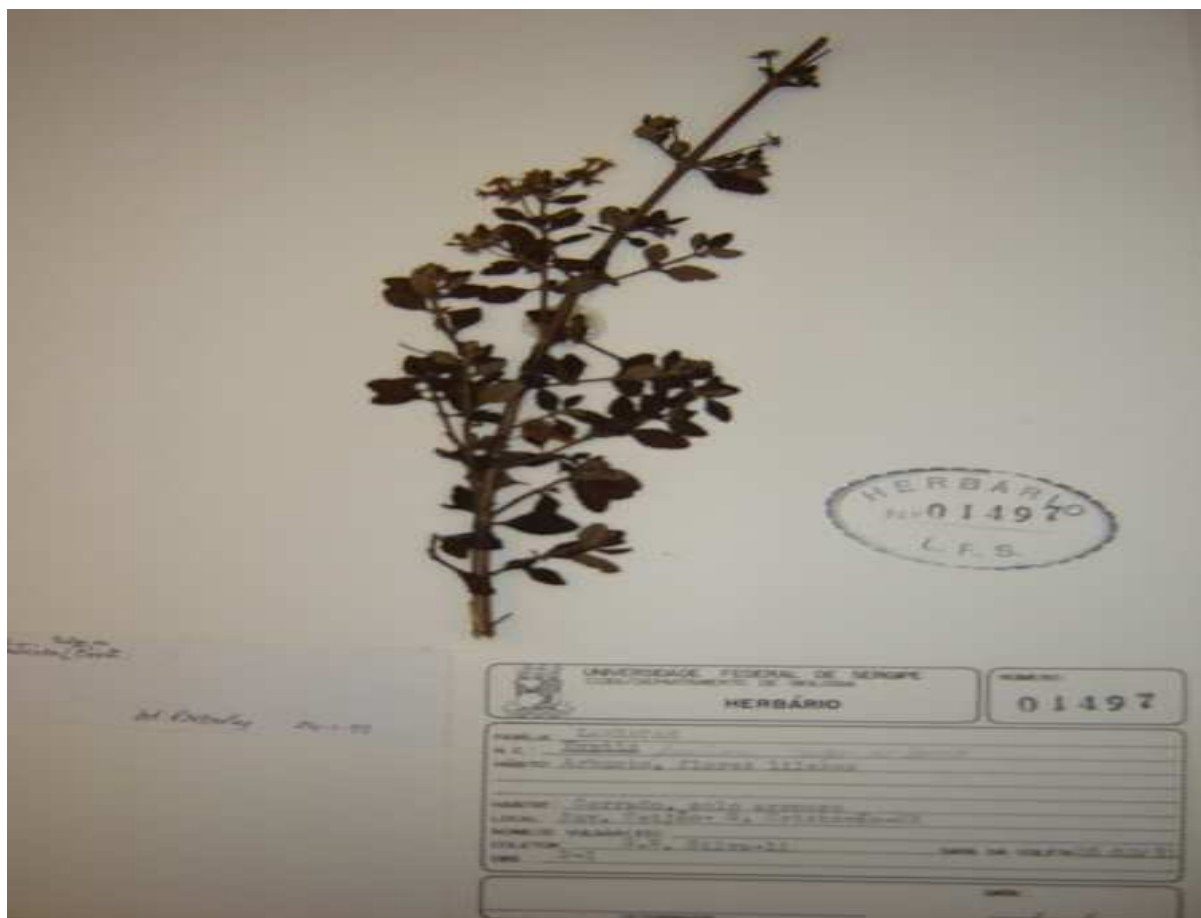


FIG 1: *Hyptis fruticosa* Salzm. (ex) Benth.
Fonte: Herbário da Universidade Federal de Sergipe.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE CCBS/DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA HERBÁRIO		NÚMERO: 01497
FAMÍLIA: LABIATAE		
N. C.: <i>Hyptis</i>		
HÁBITO: Arbusto, flores lilases		
HABITAT: Cerrado, solo arenoso		
LOCAL: Pov. Feijão - S. Cristóvão-SE		
NOME(S) VULGAR(ES):		
COLETOR: G.N. Silva-11		DATA DA COLETA: 06/10/81
OBS.: D-1		
DETERMINADOR:		DATA:

FIG 2: Cadastro da *Hyptis fruticosa* Salzm. (ex) Benth.
Fonte: Herbário da Universidade Federal de Sergipe

De acordo com Oliveira (1997), a amostra coletada no Município de São Cristóvão localizou-se na latitude de 11°00'47"s e longitude 37°12'17" WGr. O surgimento de plântulas ocorreu na época chuvosa, entre abril e julho; floração mais observada no período seco e de forma esporádica no período chuvoso. O período de maturação ocorre em intervalos de 40

dias. A sincronia intraespecífica das fenofases, associada ao balanço hídrico, demonstrou a plasticidade fenotípica dessa espécie, mesmo nas condições onde haja pouca água e solo disponível.

5. INFLUÊNCIAS FARMACOLÓGICAS DAS PLANTAS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

A farmacologia, como ciência, vem estudando os diversos efeitos farmacológicos das drogas sobre o organismo desde os séculos XVIII e XIX, comprovando efeitos de drogas, tais como cânfora, quina ou coca, e demonstrando a ineficiência de outras. Embora a descoberta da utilização de substâncias psicoativas das plantas venha ocorrendo desde o surgimento da espécie humana, com o advento da farmacologia, foi possível estabelecer uma relação entre o homem e as ervas, através da utilização e dependência observada na caça, na guerra, na execução ou em forma de tratamento. Com o passar dos tempos, vieram os estudos sistemáticos (SILVA, 2002, 134p.).

São vários os fitoterápicos e fitofármacos que apresentam efeito estimulante e/ou depressor do sistema nervoso central (SNC), tais como o *Gingo biloba*, a *Pipere thysticum* e a *Passiflora incarcanata* (SILVA, 2002, 138p.) e a *Erytrina velutina* (MARCHIORO et. al., 2005, 638p.)

Muitas das drogas atuam através da recaptação da substância neurotransmissora possibilitando modulação farmacológica nos canais iônicos, uma vez que a sinalização por ligantes pode acontecer por esses neurotransmissores, mediadores extracelulares, ou por íons ou nucleotídeos que são mediadores intracelulares (YUNES, 2001, 209p.).

6. TRANSMISSÃO SINÁPTICA

A transmissão sináptica é um mecanismo essencial para que ocorram os sinais intercelulares, provocadores de processos primordiais ao organismo humano. Essa

informação, através de uma fenda sináptica existente entre dois neurônios, está subdividida em dois tipos: a elétrica e a química.

Na transmissão sináptica elétrica, que pode ser encontrada no coração, no músculo liso, epitélio do fígado e sistema nervoso, ocorre atividade primária para mandar simples sinais de despolarização. No cérebro, é uma transmissão elétrica rápida e bastante estereotipada, e, para tal, é necessária uma grande quantidade de corrente para despolarizar a célula pós-sináptica, capaz de produzir alteração no potencial dessa célula (KANDEL, 2000, 152p.).

Já para a transmissão química, as atividades são mais flexíveis, com comportamentos mais complexos, com ações excitatórias e inibitórias e com capacidade de sofrerem alterações de sua eficácia e reconhecimento, tais como plasticidade, sendo fenômenos importantes para a memória e outras funções superiores do cérebro (FRAGOSO, 2000, 34p.).

A transmissão funcional acontece em dois momentos. No primeiro momento, há liberação do transmissor no terminal pré-sináptico e, em seguida, esse transmissor é difundido na fenda sináptica, acoplando-se a receptores pré e/ou pós-sinápticos da membrana celular. A natureza, a magnitude e o sinal são gerados pela ligação do transmissor, sendo determinado, essencialmente, pelo tipo deste (FRAGOSO, 2000, 34p.; LUNDY-EKMAN, 2000; 33p.).

No Sistema Nervoso Central (SNC), os circuitos em rede intercomunicam-se demonstrando a transmissão que acontece nos inúmeros axônios e nas terminações nervosas. Dessa forma, um único neurônio passa informações para inúmeros outros neurônios, que fazem sinapses com corpos neuronais, axônios e dendritos e na maior parte dos sinais químicos e outras forma de passagem de impulsos, estes sinais são gerados pela passagem dos íons K^+ (SILVA, 2002, 287p.).

7. RECEPTORES SINÁPTICOS

7.1. Receptores Ionotrópicos

Receptores relativamente grandes e compostos por cinco subunidades de proteínas complexas que formam um canal iônico através da membrana, a sequência desses aminoácidos demonstra uma estrutura bastante similar. Na ausência de seu neurotransmissor, esse canal fica impermeável aos íons e, na presença deles, é produzida a sua abertura por modificações conformacionais ocorrem nas proteínas, permitindo, dessa forma, um rápido influxo de íons. Essa reação é rápida, com duração menor que um milissegundo (FRAGOSO, 2000, 35p.).

7.2. Receptores Metabotrópicos

Esses receptores são polipeptídeos simples, apresentando efeitos sequenciais de início e duração lentos, chegando até a algumas horas que são iniciadas pela proteína G (FRAGOSO, 2000, 35p.).

São receptores que apresentam capacidade de interação com uma família protéica trimérica do tipo G, produzindo, inicialmente, uma reação em cadeia com outras proteínas celulares, inclusive proteinocinase C (FRAGOSO, 2000, 35p.).

Diferentemente do tempo de ativação e resposta dos receptores ionotrópicos, nestes é observado um tempo mais longo, o que permite que o SNC processe as informações por meio do estímulo inicial (FRAGOSO, 2000, 35p.).

A conformação na proteína G será determinada pela ligação do transmissor com o receptor e sua resposta a essa alteração dependerá do tipo de enzima efetora existente na célula, podendo, inclusive, amplificar o sinal, ativando diversas proteínas G quando forem

ativadas por um receptor. A dessensibilização celular será o determinante da regulação celular do número de proteínas G ativadas, com crescente necessidade desse receptor em manter uma resposta de estimulação máxima de enzimas. Outro mecanismo de auto-regulação ativadora de proteínas G é a remoção do receptor de membrana pela função de endocitose (FRAGOSO, 2000, 35p.).

8. NEUROTRANSMISSORES

Os neurotransmissores são compostos químicos que em sua maioria são classificados como aminoácidos ou seus derivados, aminas e peptídeos.

A complexidade das estruturas cerebrais com suas inúmeras funções obriga os diagramas de conexão do SNC a utilizarem desses diferentes neurotransmissores para isolar essas funções, sem esquecer os moduladores que influenciam, de forma pós-sináptica, essa atividade (LUNDY-EKMAN, 2000, 40p; SILVA, 2002, 287p.).

Uma substância, para ser considerado um neurotransmissor, precisa ser definida como substância liberada da sinapse de um neurônio para um outro, afetando-o, porém, para que seja aceita como tal, necessitando-se que sejam atendidos os seguintes critérios:

- “1. É sintetizada no neurônio.
2. Está presente na terminação pré-sináptica e é liberada em quantidade suficiente para exercer uma ação definida sobre o neurônio pós-sináptico ou órgão efector.
3. Quando administrada de maneira exógena (como uma droga) em concentrações razoáveis, imita exatamente a ação do transmissor endógeno liberado (por exemplo, ativa os mesmos canais iônicos ou vias de segundo mensageiro na célula pós-sináptica).
4. Existe um mecanismo específico para sua remoção do sítio de ação (a fenda sináptica)” (KANDEL, 2000; 238p.).

8.1. TIPOS DE NEUROTRANSMISORES E SEUS RECEPTORES

8.1.1 Ácido γ -aminobutírico (GABA)

O neurotransmissor GABA é um aminoácido que deriva-se do metabolismo intermediário da glicose e difundidos em todo o SNC

Em decorrência da passagem está impossibilitada pela barreira hematoencefálica, esse neurotransmissor precisa ser sintetizado no local e, para tal, utiliza o glutamato, um neurotransmissor excitatório do SNC que é descarboxilado pela enzima glutamato descarboxilase e está presente apenas em neurônios GABAérgicos (SILVA, 2002, 288p.).

O receptor GABA é um aminoácido com apresentação de duas isoformas, formado pela seqüência de quase 100 aminoácidos que, indiretamente, se acopla aos canais de K^+ , irão ativar a diminuição da condutância de membrana ao Ca^{++} e inibir o cAMP intracelular; quando está presente pré-e pós-sinapticamente, provocando hiperpolarização neural de forma lenta e gradual (FRAGOSO, 2000; 36p.).

O receptor GABA_A (ionotrópicos) é o principal inibidor do sistema nervoso central de mamíferos. Sendo utilizado por 40% dos neurônios supra-espinhais e localizados tanto na membrana pré- quanto na pós-sináptica, porém, não prevalece em nenhuma estrutura, sendo, portanto, encontrada tanto no cérebro quanto na medula espinhal.

Como inibidor, é responsável pela modulação excitatória do motoneurônio, estando presente no trajeto do estriado ao globo pálido lateral e no trato entre o núcleo olivar inferior do cerebelo e o núcleo vestibular (SILVA, 2002, 288p.). É pouco encontrado no sistema nervoso periférico e também pode ser encontrado no sistema endócrino como inibidor (FRAGOSO, 2000, 36p.; DARLISON et. al, 2005, 607p.).

Apresenta cinco subunidades denominadas α , β , γ , δ e ρ que formam um complexo pentamérico. Dessas, as quatro primeiras subunidades estão bastante presentes no cérebro a

última ρ predomina na retina. Cada subunidade apresenta vários subtipos, com variação na sequência de aminoácidos, somando um total de 16 diferentes polipeptídeos (FRAGOSO, 2000, 36p.; DARLISON et. al, 2005, 607p.).

Apesar da variação, a resposta obtida é por influxo de canais para o Cl^- , provocando hiperpolarização neural e, conseqüentemente, fazendo com que haja, entre elas, um distanciamento do limiar de gatilho do potencial de membrana (FRAGOSO, 2000, 36p.; DARLISON et. al, 2005, 607p.).

Além desse canal ser seletivo para o cloro, apresenta sítios para o benzodiazepínicos, barbitúricos, esteróides neuroativos e fosforilado para proteína kinase C (PCK) e A (PKA). Os receptores GABA_C , localizado na retina, também tem seu ligante para os canais de Cl^- , que são insensíveis as drogas que modulam GABA_A e GABA_B (REKLING, et. al, 2000; 792p.).

O receptor metabotrópico GABA_B estimulado pelo neurotransmissor GABA, promove inibição pré-sináptica acoplando-se as proteínas G, reguladoras da abertura dos canais de cálcio voltagem-dependentes por produção do aumento de K^+ ou diminuição de níveis de Ca^{++} (REKLING, et. al, 2000; 799p; SILVA, 2002, 288p.).

São dois os tipos identificados do GABA_B e são, $\text{GABA}_B \text{ R1}$ e $\text{GABA}_B \text{ R2}$ com propriedades farmacológicas similares e mecanismo de ação pré-e pós-sinápticamente em todo o SNC (REKLING, et. al, 2000; 799p.). Os do tipo pós-sináptico, provavelmente, são mais encontrados nos dendritos causando ativação dos potenciais inibidores, A remoção do neurotransmissor é realizada pela captação sódio-dependente, específico e de grande afinidade, encontrados tanto nos terminais pré-sinápticos quanto nas células gliais. O GABA excedente é catabolizado pela enzima GABA transaminase, transformando-se em um metabólito inativo (KANDEL, 2000, 246p; SILVA, 2002, 288p.).

8.1.2. Serotonina (5-HT)

A serotonina, um neurotransmissor de múltiplas funções, com mais de 14 subtipos de receptores, considerada uma amina biogênica é encontrada nos núcleos da rafe onde células se projetam para todo o cérebro e medula espinhal e pertence a um grupo de compostos indóis (LUNDY-EKMAN, 2000, 306p.; KANDEL, 2000, 239p.; REKLING, et. al, 2000, 801p.; ROSSI; TIRAPEGUI, 2004, 228p.).

Suas enzimas, em número de duas, são a triptofano hidroxilase e a 5-hidroxitriptofano decarboxilase que participam no sistema descendente do controle da dor e no sono não-REM e REM (KANDEL, 2000, 239p.; REKLING, et. al, 2000, 801p.; ROSSI e TIRAPEGUI, 2004, 228p.), além de fazer outros ajustes das redes neuronais, tais como, controle do comportamento emocional, controle do apetite, termorregulação, controle da pressão sanguínea, percepção dolorosa e controle neuroendócrino (SILVA, 2002, 297p.).

Por apresentar a característica de não atravessar a barreira hematoencefálica a síntese desse neurotransmissor é local. No que se refere à modulação da atividade da triptofano hidroxilase, esta é dependente do fluxo de descargas neuronais nas fibras serotoninérgicas, ou seja, quanto mais atividade, mais síntese (SILVA, 2002, 297p.).

Sua relação com a depressão tem sido estudada, podendo induzir a crise os indivíduos já vulneráveis, portanto, uma ação indireta e não necessariamente na fisiopatologia da depressão (BERMACK; DEBONEL, 2005, 322p.).

8.1.3. Neuropeptídeos

Derivadas de proteínas de secreção, formados no corpo celular que primeiramente são processados no retículo endoplasmático e deslocados em seguida para o aparelho de Golgi sendo transportado por grânulos de secreção e distribuídas através do transporte

axoplasmático lento para as terminações sinápticas (KANDEL, 2000, 241p.; SILVA, 2002, 459p.).

A substância P foi o primeiro composto da família de neuropeptídeo a ser purificado e caracterizado. A neuroquinina A (NKA), também conhecida como substância K, neuroquinina α e neuromedina L e a neuroquinina B (NKB) com sinonímia de neuroquinina β , neuromedina K. Quanto aos receptores, o receptor NK₁ tem sua interação com a substância P e o receptor NK₂ com a NKA e o receptor NK₃ com NKB, todos da família dos receptores da proteína G (REKLING, 2000, 815p.).

A despolarização da substância P está associada com a diminuição da condutância de dois mecanismos iônicos, o primeiro, voltagem-independente restrita da corrente de K⁺ e o segundo, a ativação simultânea da corrente catiônica, relatada tanto na medula como nos lócus ceruleus (REKLING, 2000, 815p.).

A exemplo da substância P, NKA e NKB, as encefalinas, β -endorfinas e as dinorfinas, também estão envolvidas na percepção da nocicepção, na modulação da sensibilidade e das emoções além de outras respostas complexas como o estresse (SILVA, 2002, 459p.).

Atividades paradoxais aos opióides são evidenciadas por outros neuropeptídeo e a colecistocinina (CCK) que exibem complexas propriedades de potencializar ou neutralizar esta atividade opióide (MOLLE REAU et. al., 2005, 345p.).

A produção, a partir da mesma poliproteína, produz família de peptídeos opióides, em que todos contêm a mesma sequência de aminoácidos, já os precursores de três poliproteínas diferentes, produzindo produto de gene distinto. Essas famílias no SNC, em três, são: as encefalinas, as endorfinas e as dinorfinas. Seus receptores estão localizados tanto no sistema nervoso quanto em outros tecidos, e sua classificação está dividida em cinco tipos correlacionados com seus subtipos: μ (mu), κ (capa), δ (delta), σ (sigma) e ϵ (epsílon). O

antagonista mais comum é a naloxona que tem ação antagonista em receptores μ , κ , δ (SILVA, 2002, 159, 462p.; BERMACK; DEBONNEL, 2005, 317p.).

No que diz respeito aos sítios receptores, são encontrados níveis elevados nas lâminas I e II do corno dorsal da medula espinhal, núcleo trigêmeo medular, tálamo, hipotálamo, substância periaquedutal cinzenta, núcleos da rafe, região ventral superior do bulbo, ponte, locus ceruleus, amígdalas, córtex cerebral, hipocampo, núcleo caudado e globo pálido, medula supra-renal, além dos plexos nervosos e glândulas exócrinas do estômago e intestino, induzindo à sugestão de participação na regulação do comportamento motor, afetivo, neurovegetativo e neuroendócrino (SILVA, 2002, 459p.; GUARNA et. al, 2005, 191p.).

Na célula, os opióides acoplam-se à proteína G, influenciando a concentração do cálcio e a fosforilação de proteínas. Sua inibição será por hiperpolarização pré-e pós-sinapticamente com a saída de potássio; ou diminuição de entrada de cálcio pré-sinapticamente e menor liberação de neurotransmissores excitatórios, tais como a acetilcolina, norepinefrina, dopamina, serotonina e substância P. Outro tipo de segundo mensageiro, monofosfato de adenosina cíclica (cAMP) realiza sua inibição pela proteína G inibitória associada com a enzima adenil ciclase (SILVA, 2002, 461p.).

A morfina, um opióide exógeno, além de ser inibidora da dor, apresenta outros efeitos no SNC, tais como diminuição da ansiedade e angústia, sonolência e diminuição da capacidade cognitiva, além de inquietude, mal-estar, nervosismo, tristeza, desorientação, alucinação e delírio. O efeito paradoxal dose-depedente, produzindo excitação do SNC, como agitação, mioclonia e convulsão, foi observado em animais de experimento (KANDEL, 2000, 308p.; SILVA, 2002, 462p.).

O envolvimento de receptores opióides μ com a morfina endógena, na modulação termnociceptiva foi sugerida por Guarna et. al. (2005, 191p.). A morfina endógena pode ser

liberada por altas concentrações de potássio, como foi visto, *in vitro*, em cérebros de ratos. Este efeito foi revertido quando retirado o Ca^{++} do meio (REKLING et. al, 2000, 773p.).

Assim como os opióides, as substâncias (CCK) estão presentes em altas concentrações no SNC e de forma intrigante. Tanto ela quanto seus receptores são encontrados nos mesmos locais aos dos opióides. Pesquisas experimentais envolvendo níveis de CCK foram estudadas mediante a aplicação de morfina na medula espinhal de ratos, sendo demonstrada uma atividade antinociceptiva dos opióides pelo bloqueio dos receptores δ , aumentando a liberação de substâncias que estimulam os receptores δ de forma positiva, potencializando a eficácia dos opióides (SILVA, 2002, 462p.).

8.2. Agonistas e antagonistas dos neurotransmissores

Agonista é a substância que tem função de ligar-se aos receptores, aumentando a proporção da ação dos ativos e resultando em uma ação biológica. O agonista pode ser convencional ou inverso; a primeira potencializa, enquanto o inverso diminui a atividade dos receptores, além do antagonista parcial do cativo e do primário, com atividade de pouca eficácia, de envolver moléculas vizinhas e que, para atuar, precisa de outro ligante, o co-agonista, respectivamente (SILVA, 2002, 110p.).

Já o antagonista diminui a atividade de uma droga, provavelmente um agonista. Sua atuação pode ser direta ao receptor do agonista, na forma superável ou insuperável, além dos farmacocinéticos, farmacodinâmico alotópico e sintópico (SILVA, 2002, 111p.).

A atividade farmacológica, através de seus agentes, pode desempenhar uma atividade agonista ou antagonista, a depender de estarem agindo em forma de imitação ou inibição, através de bloqueio, a ação dos neurotransmissores (LUNDY-EKMAN, 2000, 41p.).

A atividade é vista quando o agente farmacológico promove efeito semelhante ao natural do neurotransmissor. Por outro lado, quando o agente for antagonista ele impede a

liberação do neurotransmissor, ou mesmo, se fixa ao receptor, impedindo que o neurotransmissor atue (LUNDY-EKMAN, 2000, 41p.).

9. NEURÔNIOS SOMATO-SENSORIAIS PERIFÉRICOS

Os neurônios somato-sensoriais são receptores localizados em todo o corpo animal, encarregados de receberem informações discriminativas, em específico de dor e temperatura, sendo compostos de axônios encarregados de enviarem impulsos pelos tratos paralelos que ascendem da substância branca ântero-lateral da medula espinhal, levando essas informações às estruturas cerebrais com funções mais complexas (LUNDY-EKMAN, 2000, 79p.).

10. TRANSMISSÃO DA INFORMAÇÃO NOCICEPTIVA

O estímulo nociceptivo é do tipo polimodal, em resposta aos estímulos mecânico, térmico e/ou químico, deflagrado quando se atinge o limiar de condução do potencial de ação. Em condições fisiológicas, para que se manifeste o fenômeno nociceptivo, é preciso que as vias vinculadas a este no Sistema Nervoso Periférico (SNP) e SNC, assim como dos centros de processamento e supressão da dor, estejam íntegras (LUNDY-EKMAN, 2000, 79p.).

Esse fenômeno cursa várias vias distintas, com ação em vários níveis. O primeiro é o trato neo-espino-talâmico, filogeneticamente mais recente, sendo a via de condução rápida; o segundo é o trato paleo-espino-talâmico, filogeneticamente mais antigo e de condução lenta (LUNDY-EKMAN, 2000, 79p.).

A sensação ativada por estímulos advindos das terminações livres, localizados na periferia, é chamada dor rápida. O neurônio primário da fibra tipo A δ , delgada e mielinizada, é o encarregado em transmitir essas informações ao corno dorsal (TEIXEIRA, 1999; LUNDY-EKMAN, 2000, 80p.; PINTO, 2000, 253p.; LENT, 2002, 230p.) que antes cursa vários segmentos pelo trato dorso-lateral (zona marginal de Lissauer), terminando nas lâminas I, II

e/ou V da medula espinhal e na substância cinzenta do corno posterior da medula espinhal (CPME), classificada como primeiro centro integrador dos sistemas aferentes primários no neuroeixo, responsável pela estimulação mecânica lesiva (aferência de mecanorreceptores de limiar alto) e pela estimulação térmica (aferência mecanotérmica) (TEIXEIRA, 1999; LUNDY-EKMAN, 2000, 80p.; PINTO, 2000, 253p.).

A dor lenta, considerada dor inflamatória, é considerada dor periférica. Sua transmissão é realizada pelas terminações livres de fibras do tipo C, com resposta mais complexa, causada quando existe lesão tecidual e sangramento, provocando anóxia desse tecido, seguido de lesão celular e inflamação. Na liberação dessas hemácias, são liberados também leucócitos, dentre esses, os mastócitos, células produtoras e secretoras de substâncias algogênicas, provocadoras de dor, tais como α serotonina(5-HT), aminas, simpaticomiméticos e histamina (LENT, 2002, 232p.).

Outras substâncias algogênicas são peptídeos do tipo bradicinina e substâncias irritantes e os derivados do ácido araquidônico, as prostaglandinas, que são enzimas sintetizantes da ciclooxygenase, e as prostaciclinas que, apesar de não serem algogênicas, potencializam as atividades responsáveis pelo fenômeno da hiperalgesia, provavelmente decorrente da ativação do sistema de sinalização intracelular proteína G/ AMP_c , sendo produtoras do aumento dos níveis de Ca^{++} citosólicos que fecham os canais de K^+ e tornam funcionais (através da fosforilação ou neossíntese) alguns canais de sódio da membrana dos neurônios. A ação vasodilatadora local que provoca eritema e edema é responsável pelo prolongamento da dor. O resultado dessa ação neurosecretora resulta na reação inflamatória neurogênica da reação inflamatória primária (LENT, 2002, 231-2p.).

A alimentação retrógrada no neurônio primário pelo glutamato provoca liberação desse neurotransmissor que, possivelmente pelo aumento de Ca^{++} citosólico, atua no receptor NMDA no terminal medular pré-sináptico, induzindo um aumento na entrada de mais cálcio,

ação contínua responsável pela manutenção da hiperalgesia. Antagonizando o receptor NMDA do glutamato com aspirina, produz-se um bloqueio à sensibilização retrógrada, causando analgesia por inibir a hiperalgesia. Moncada et al (1978) e Ferreira e Vane (1979), em estudos experimentais, demonstraram que a atividade analgésica dos antiinflamatórios não hormonais em específico a aspirina e a endometacina, deve-se ao bloqueio da síntese de prostaglandinas por inibição da cicloxigenase (LENT, 2002, 232p.).

Outra forma de analgesia periférica é o diclofenaco, provavelmente por estimular o sistema arginina, óxido nítrico/GMP_c, provocando a abertura de canais de potássio e contrapondo-se à redução do limiar, causada pelo aumento de Ca⁺⁺ (LENT, 2002, 232p.).

A liberação pelas terminações proximais dos aferentes primários dos neurotransmissores excitatórios sofre influência de sistemas neuronais excitatórios e inibitórios segmentares e supra-segmentares no CPME. E, a depender da modulação da nocicepção segmentar, essa informação será ou não transferida pelos neurônios de segunda ordem para centros rostrais do neuroeixo (TEIXEIRA, 1999, 207p.).

Uma vez que acontecem esses estímulos na recepção, as sinapses excitatórias, sem a inibição lateral realizada por interneurônios inibitórios atuantes, tornam a retransmissão progressivamente maior em resposta a esse estímulo, ou um efeito restrito, em decorrência da inibição lateral, acentuando a continuidade desse sistema. Assim, temos a distribuição espacial maior ou restrita a um estímulo, acentuando o contraste dos estímulos (KANDEL e col. 2000, 306-7p.).

11. VIAS ASCENDENTES

11.1. Trato espinotalâmico: É a via nociceptiva que emerge das lâminas I e V, ambas específicas para a dor, sendo a lâmina V contendo células de grande amplitude dinâmica

(wide dynamic range cells). Estas ascendem, após cruzarem a medula, da substância branca antero-lateral para o complexo ventrobasal do tálamo, seguindo projeção para a área somatossensitiva do córtex (FIG: 2) (SCHAILE; RICHTER, 2004, 237p.; PINTO 2002, 254p.).

11.2. Trato espinoreticular: Fazem parte desta via os neurônios que compõem as lâminas VII e VIII da medula, ascendendo para o tálamo ou para a formação reticular (PINTO, 2002, 254p.).

11.3. Trato espinomesencefálico: É a via formada por neurônios das lâminas I e V. Em seguida, ascendem para a formação mesencefálica e para a substância cinzenta periaquedutal (PINTO 2002, 254p.).

11.4. Trato cervicotalâmico: É a via que tem origem no núcleo cervical lateral, porém com inputs advindos dos neurônios das lâminas III e IV da medula, seguindo para o tálamo (PINTO 2002, 254p.).

11.5. Trato espinohipotálâmico: Projeções que emergem das lâminas I, V e VIII por neurônios que se projetam para os centros de controle autonômico supraespinal. Provavelmente, esses inputs ativam respostas neuroendócrinas e cardiovascular complexa (PINTO 2002, 254p.).

O córtex é o componente estrutural responsável pela integração sensorial, afetiva e cognitiva. A dependência de todas essas informações é importante para que haja a resposta normal à dor. Neurônios seletivos, nas áreas somatossensitiva, córtex insular e giro cingular,

estão prontos a responder aos estímulos nociceptivos. Por ser o giro cingular participante do sistema límbico, provavelmente, este pode ser responsável pelo processamento do componente emocional da dor. Já o córtex insular recebe informações proprioceptivas através de neurônios provenientes do tálamo, (PINTO 2002, 254p.; SCHAILE; RICHTER, 2004, 238p).

12. VIAS DESCENDENTES

O primeiro local de resposta descendente ao estímulo nociceptivo é a medula. A primeira teoria é a Teoria da Comporta que tem seus estímulos deflagrados, com sua abertura, mediante estímulos nociceptivos provenientes das fibras $A\beta$ (PINTO 2002, 253p.). Os nociceptores podem também exercer função eferente tissular na liberação de neuropeptídeos, tais como substância P e Peptídeo gene-relacionado da calcitonina (CGRP) para sua estimulação sensorial completa. Desse modo, eles induzem à vasodilatação, ao extravasamento de plasma e a outros efeitos, a exemplo da atração de macrófago ou das células de granulação. A produção de inflamação é chamada de inflamação neurogênica (SCHAILE; RICHTER, 2004, 237p.).

O próximo local a responder aos estímulos é o tronco cerebral, mais especificamente a substância cinzenta periaquedutal (SCPA), locus ceruleus e o bulbo raquidiano ventro medial rostral (BRVMR) (PINTO 2002, 255p.), Além do núcleo magno da rafe (SCHAIBLE; RICHTER, 2004, 238p.). A SCPA, provavelmente, faz parte dos circuitos que controlam a transmissão nociceptiva em nível medular, através da estimulação do BRVMR que, realmente, fará mediação da dor, projetando-a para CPME (PINTO 2002, 255p.).

A SCPA recebe projeções diretas do córtex pré-frontal e insular, além do hipotálamo, da amígdala e do tronco e o BRVMR é a maior fonte de neurônios do tronco cerebral para o

CPME, mais especificamente para as lâminas I, II e V. Sendo as células de três tipos: células OFF, ON e Neutras. As OFF são estimuladas por opióides e as únicas das três a serem excitadas pela morfina que, na verdade, recebem inputs inibitórios das células ON GABAérgicas que são realmente inibidas pelos opióides, podendo ser inibidas por estímulos nociceptivos; as ON facilitam a transmissão nociceptiva em nível medular e as Neutras não apresentam respostas nem a estímulos nociceptivos nem aos opióides FIG.2 (PINTO, 2002, 255p.).

Outra área é o bulbo ventrolateral caudal que pode produzir analgesia intensa e duradoura através de estimulações elétricas de baixa intensidade e outras formas de modulação da dor, ativando simultaneamente, sistemas inibitórios e excitatórios (PINTO, 2002, 255p.).

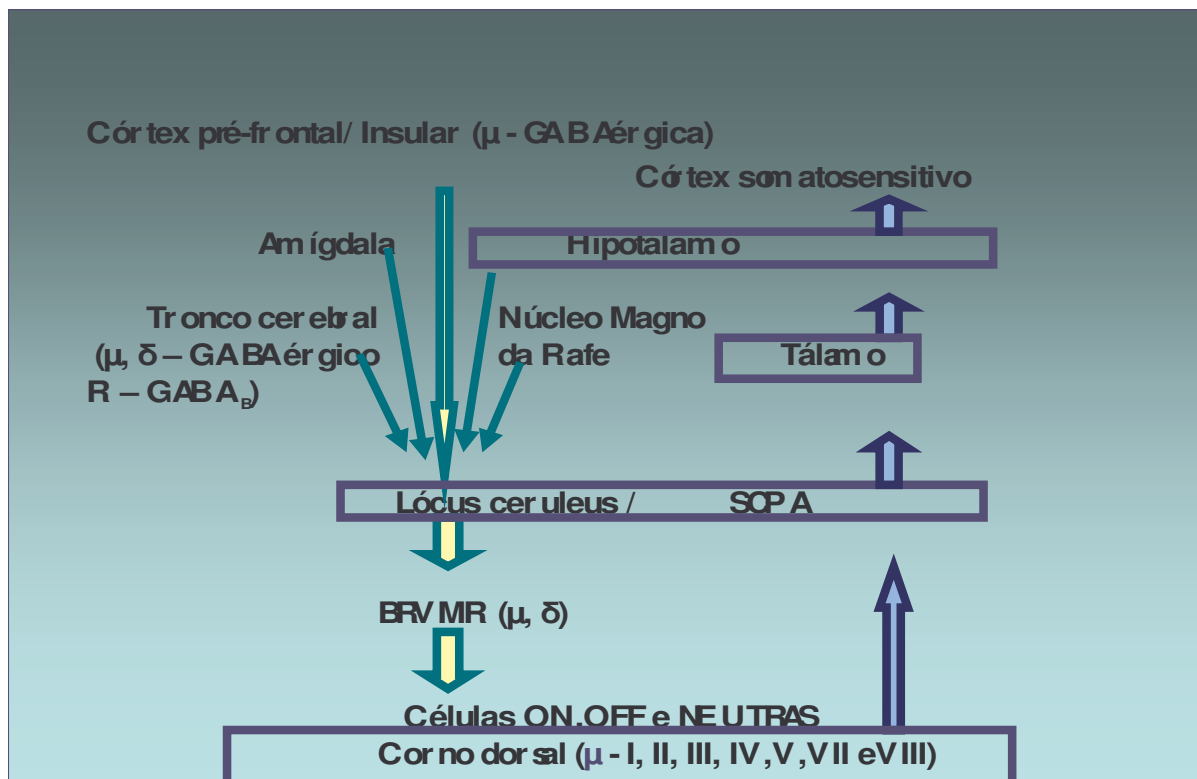


FIGURA 3: Vias ascendentes e descendentes.
Fonte: Pesquisadora, 2005.

13. BASES BIOQUÍMICAS DA NOCICEPÇÃO E ANTINOCICEPÇÃO

13.1. Nas Vias Ascendentes

A sensação de nocicepção é transmitida do receptor periférico (terminações livres) até a medula pelas fibras não-mielinizadas do tipo C, utilizando-se da substância P (neuroquinina-1 ou NK-1) (ENNA, 1998; SCHAILE; RICHTER, 2004, 241p.), podendo ser sua atividade diminuída por agonistas GABA, ocorrendo, geneticamente, em nível de mRNA-NK-1(ENNA, 1998).

Os opióides previnem a dor aguda periférica, reduzindo a liberação de substância P, encontrada nas terminações pré-sinápticas das fibras nociceptivas, e inibindo as fibras pós-sinápticas desses neurônios medulares de segunda ordem, impedindo a sensibilização (redução do limiar nociceptivo) (VALADÃO et al, 2002, 347p.).

O glutamato é o transmissor principal da via talamocortical, estando presente em vias trigêmio-talâmicas e espinotalâmicas. Segundo Carlton; Coggeshall (1999) IN: FRAGOSO (2000, 38p.), o número de seus receptores tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), AMPA e KA parecem estar aumentados durante o processo inflamatório, como também dos axônios dos neurônios mielinizados ou não; segundo Schaile; Richter (2004, 241p.), os transmissores/receptores envolvidos na indução da dor central são o glutamato e seus receptores ionotrópicos NMDA e não-NMDA e o receptor metabotrópico glutamato.

Sua ação dá-se pelo influxo de Na^+ e Ca^{++} para haver despolarização neuronal de ação curta, porém, com efeito, somatório, por acúmulo de cátion, ativação de fosfolipases, prostaglandinas e da sintetase do óxido nítrico. Apesar de a reação do dano tecidual ser espontaneamente pequena, amplifica-se e prolonga-se, descrita como fenômeno amplificado e automatizado, ou *wind up* (FRAGOSO, 2000, 38p.; SCHAILE; RICHTER, 2004, 240-41p.).

13.2. Nas Vias Descendentes

As vias descendentes nociceptivas, basicamente, são serotoninérgicas (advindas do núcleo da rafe) e alfa-adrenérgicas (do lócus coeruleus), interagindo com fibras axonais do tipo C e A. Já os níveis de GABA, variam regionalmente mediante estímulos dolorosos. A serotonina ativa os opióides contidos nos neurônios, desinibindo os receptores GABA_B das vias bulboespinhais. Como antagonista, GABA inibe as vias descendentes serotoninérgicas e alfa-adrenérgicas, além da antinocicepção endorfinérgica. “Assim, enquanto a transmissão nociceptiva parece depender de glutamato e NK-1, a modulação antinociceptiva parece depender da integração serotonina-adrenalina-endorfina-GABA” (FRAGOSO, 2000, 38p.)

14. NEUROFISIOLOGIA E BASES BIOQUÍMICAS DA SEDAÇÃO E HIPNOSE

O sono é um processo ativo do sistema nervoso central, caracterizado pela sucessão cíclica de diversas alterações psicofisiológicas. A formação reticular é responsável por aumentar a vigília ou produzir e manter o sono, ambas vinculadas ao estado de atividade cerebral relacionada com mudanças hormonais, mudanças essas de maior intensidade nas idades menores. Os neurônios e os neurotransmissores envolvidos são os do núcleo da rafe que contêm grande quantidade de serotonina responsável pelo desencadeamento do sono NREM, seguido do sono REM, estimulado pela noradrenalina (FIG. 3) (MENDES e col., 1997, s.p.).

As fases do sono são iniciando-se pela vigília descontráida caracterizada como ritmo alfa; o segundo estágio, o estágio superficial (sono leve), com diminuição do ritmo intercalados com rajadas de ondas de maior amplitude diminuídos progressivamente; o terceiro e quarto estágios são compostos de sono profundo com grandes amplitudes e lentas

ondas delta atuando nos neurônios serotoninérgicos do núcleo da rafe desencadeando o sono NREM seguido da estimulação dos neurônios colinérgicos e catecolaminérgicos do complexo cerúleo responsáveis pelo sono com movimentos rápidos (sono REM ou paradoxal) que dura cerca de duas horas onde se tem estado ativo de recuperação e profundo relaxamento do tônus porém desconectado sensorialmente e muscularmente (LUNDY-EKMAN, 2000, 229p.; MENDES e col., 1997, s.p.).

A depressão do sistema nervoso é conseguida através do efeito sedativo e hipnótico. A primeira é conseguida quando o indivíduo é submetido à diminuição da atividade motora e à diminuição do nível de vigília, destinada ao alívio de estados de excitação excessiva, acompanhada de relaxamento muscular e diminuição da ansiedade; e a segunda quando induz e mantém o sono por certa duração, induzida por drogas, demonstrando profunda depressão.

A continuidade dessa depressão pode evoluir para anestesia geral e estado de coma, caracterizada por perda da sensibilidade à dor, ausência de reações aos estímulos externos e alteração das funções neurovegetativas. O aumento da dose provocará mais depressão com comprometimento bulbar e de depressão das atividades reflexógenas, evoluindo para a morte, causada por insuficiência respiratória e circulatória, porém drogas, como benzodiazepínicos, causam hipnose sem causar anestesia geral, coma ou morte (SILVA, 2002, 359p.).

O primeiro hipnótico descoberto foi o barbital, derivado do ácido barbitúrico, em 1903. Este, por sua vez, age diretamente no GABA, peptídeos e moduladores do influxo de cloro, mimetizando e potencializando sua ação de inibição do SNC, especialmente nos sistemas de controle do sono, por induzirem à redução da latência e/ou aumentarem a duração do sono induzido (LAPA, 2003, 77p.). Os barbitúricos induzem ao sono de forma semelhante ao fisiológico, interferindo com diminuição na fase do sono paradoxal que responde por movimentos oculares rápidos, movimentos de extremidades e diminuição da tensão muscular (SABBATINI, 2005), resultando na manutenção da quantidade total de ondas lentas durante o

tempo total de sono, porém, sua atuação é indireta, provocando redução do hiperalerta de tensão, possibilitando, dessa forma, os mecanismos indutores da depressão fisiológica (MENDES e col., 1997, s.p.; BALLALAI, 1999, s.p.).

Os benzodiazepínicos, atualmente, são as substâncias hipnóticas mais utilizadas, principalmente por apresentarem ação ansiolítica, hipnótica, anticonvulsivante e relaxante muscular. Neurofisiologicamente, esses deprimem a atividade elétrica da formação reticular, quer seja por vias ascendentes ou descendentes (DOUGLAS, 1994, 273p.; SILVA, 2002, 360p.).

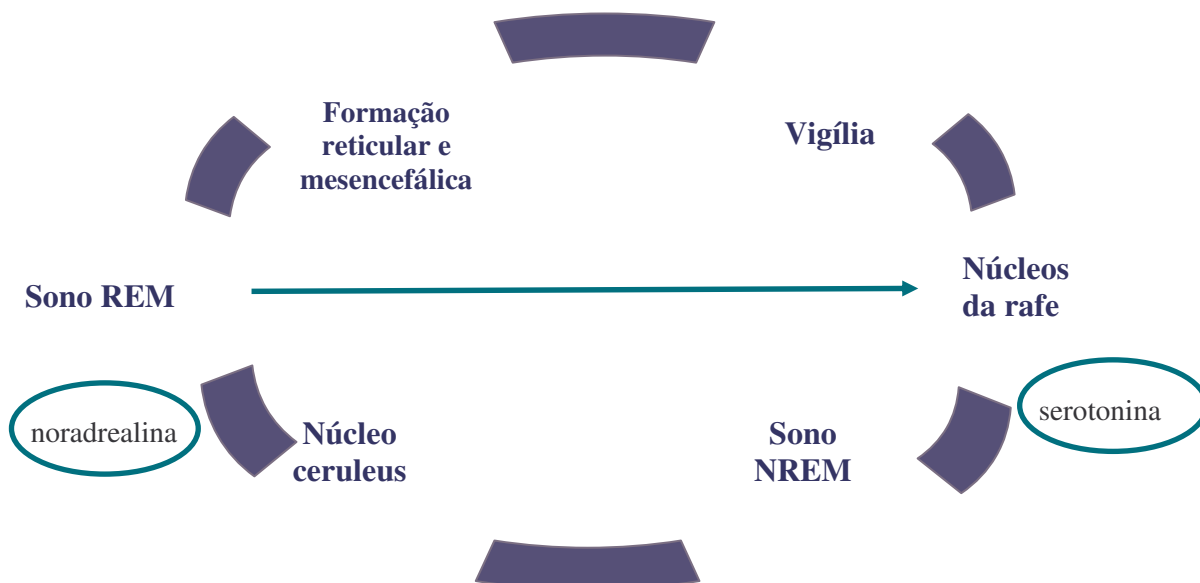


FIGURA 4: Ciclo sono-vigília com participação das substâncias transmissoras monoaminérgicas

Fonte: Pesquisadora, 2005.

15. EPILEPSIA

A epilepsia é um estado episódico com distúrbio estigmatizado, com diferenciação entre crise epilética e epilepsia. A crise epilética tem duração limitada e a epilepsia é uma condição crônica (SALGADO; de SOUZA, 2003, 165p.).

Por impor restrições e limitações na vida do indivíduo, a epilepsia, causa mais impacto na saúde física, quando comparada, a outras doenças crônicas (SALGADO; de SOUZA, 2003, 165p.).

Afeta 0,5% a 1% da população mundial. Apesar dos países desenvolvidos disponibilizarem de assistência farmacológica, 30 a 40% dos pacientes são refratários à terapia medicamentosa (Mendes e col., 2005, 618p.).

A crise tônico-clônica é um tipo de crise epiléptica sendo a forma generalizada uma forma de crise contínua (LAUSÁN e col., 2001, 227p.).

A epilepsia caracteriza-se pela excessiva e incontrolada atividade elétrica cerebral decorrente do envolvimento de uma parte ou de todo o SNC. O limiar de excitabilidade ultrapassa o limiar crítico (MENDES e col., 1997, s.p.).

Uma forma de estimular este limiar é através do bloqueio de inibição pós-sináptico, pelo bloqueio GABA, potencializando a transmissão neural (GRAFF; GUIMARÃES, 2000).

Há evidências que indicam relações entre o ciclo sono-vigília, tanto efeitos facilitadores como inibidores, por vezes, ação protetora e por outra facilitadora com manifestações durante o sono ou ao despertar. O aumento do número de descargas interictais é mais observado durante o sono NREM (ALMEIDA et. al., 2003, 979p.).

II. OBJETIVOS

GERAL

- Investigar os efeitos do Extrato Hidroalcoólico das folhas da *Hyptis fruticosa* Salzm. (ex) Benth sobre o sistema nervoso central de camundongos

ESPECÍFICOS

- Determinar a toxicidade aguda do E.H. da *H. fruticosa* (DL₅₀) em camundongos;
- Evidenciar efeito antinocicetivo e sedativo/hipnótico do E.H. da *H. fruticosa* em camundongos nos modelos de convulsão e sono induzidos;
- Mensurar efeitos antinociceptivos do E.H. da *H. fruticosa* nos modelos de nocicepção em camundongos.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

1. MATERIAL BOTÂNICO

As amostras da *Hyptis fruticosa* foram coletadas no sítio Timbó, Povoado do Feijão, município de São Cristóvão/SE, latitude de 11°00'47"s e longitude 37°12'17" WGr. Dois exemplares da planta foram-se depositados e catalogados no Herbário da Universidade Federal de Sergipe (UFS) ASE 285; N° 01497.

2. ANIMAIS

Neste trabalho foram utilizados camundongos adultos, da linhagem Swiss (20-50g) fornecidos pelo Biotério Central da UFS. Para cada experimento foram utilizados de 06 a 08 animais.

Um dia antes dos experimentos, os animais (no máximo 8 por gaiola) foram transferidos para o Biotério do Departamento de Fisiologia da UFS. Os animais foram mantidos em dieta hídrica "ad libitum" por 4 a 6 horas.

Ao final de cada experimento os animais foram submetidos ao deslocamento cervical, armazenados em freezer e posteriormente incinerados no Biotério Central.

3. COMITÊ DE ÉTICA PARA EXPERIMENTO ANIMAL

O uso de animais seguiu normas para a prática didático-científica descritas na Lei nº 9.605/ 1998, § 1º e o Projeto de Lei nº 1.691, de 2003 (CARDOSO, 2004), aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA/UFS) N° 32/2005 (APÊNDICE A).

4. OBTENÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO

Para a obtenção do extrato hidroalcoólico foram utilizadas 393,4g de folhas secas e maceradas. O pó dessas folhas foi dissolvido em álcool etílico a 90%, durante dez dias. A seguir, a amostra foi concentrada em Rotaevaporizador fornecendo 16g. de extrato bruto (8,6% de rendimento).

6. DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA (DL_{50}) DA *H. fruticosa*

Para a determinação da Toxicidade aguda (DL_{50}) utilizamos o método descrito por Dietrich, 1983 modificando o número de animais segundo proposta de Schleder 2005. Escolheu-se as doses 1, 2, 3, 4 e 5g/Kg (N=06 para cada grupo), seguindo protocolo da ANVISA. Cada animal recebeu um volume de solução de 10ml/Kg (v.o) do extrato. Na diluição do extrato utilizou-se de uma emulsão de cremofor (0,2 a 0,6 ml) seguida de salina (0,9%).

O grupo controle (N=06) recebeu salina 0,9% (v.o.). Os animais foram observados por 24 horas e o número de mortos foi computado.

Os animais sobreviventes foram acondicionados em sala do Biotério local da Universidade Federal, e ao final de 14 dias tiveram seus pesos monitorados.

7. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

7.1. Convulsão induzida por Pentilenotetrazol

O efeito do EH de *H. fruticosa* foi verificado sobre as convulsões induzidas pelo pentilenotetrazol (60 mg/Kg i.p.; SIGMA - EUA) (LAPA, 2003, 83p.).

Neste experimento foram utilizados 5 grupos de 8 animais. Antes (30 minutos) de receberam injeção i.p. de Pentilenotetrazol (60 mg/Kg i.p. SIGMA - EUA), os camundongos receberam solução salina (0,9%), EH de *H fruticosa* (20, 100 e 500mg/Kg i.p.) ou Diazepan (5mg/Kg; i.p.; Cristalia – Brasil).

Os tempos de latência para o início das convulsões e de morte dos animais foram registrados.

7.2. Tempo de sono induzido por Barbitúrico

Substâncias que deprime o SNC prolongam o tempo de sono induzido por barbitúricos (Carlini et al, 1986). Para este experimento foram utilizados 5 grupos de 8 camundongos onde 30 minutos antes de receberem uma injeção de tiopental sódico (60mg/Kg i.p.; ABOTT – EUA), estes animais receberam: solução salina (0,9%), EH de *H fruticosa* (20, 100 e 500mg/Kg i.p.).

Foram registrados os tempos (em minutos) para a perda (latência) e recuperação (duração) do reflexo de endireitamento. Este reflexo foi testado para cada animal uma única vez.

7.3. Teste da contorção abdominal induzida por Ácido Acético (6%)

Este teste foi originalmente proposto por Roster et al (1959). Consiste da administração intra peritonal (i.p.) de ácido acético 6% (MERCK - Brasil),. O parâmetro de analgesia utilizado foi contagem do número de contorções abdominais durante 20 minutos.

Trinta minutos antes da administração do ácido acético, 6 grupos de 6 camundongos receberam injeções i.p. de: salina (0,9% i.p.); EH da *H fruticosa* (20, 100, 500mg/Kg i.p.); Morfina (10mg/Kg i. p., Cristalia – Brasil); Morfina + Naloxona (5mg/Kg i. p., SIGMA – EUA), e o Extrato 500 mg/Kg + Naloxona (5mg/Kg i. p.).

7.4. Teste de “Tail-Flick”

A metodologia utilizada neste teste foi adaptada de Emim e cols (2000). O teste consiste em aplicar um feixe de luz no terço médio da cauda dos animais a uma temperatura de 47°C. O parâmetro de analgesia utilizado foi o tempo de latência para a retirada da cauda, medida em segundos, com corte de 10 segundo para o tempo total de estímulo térmico, com o objetivo de não provocar lesão tecidual no animal.

Essas leituras foram realizadas nos tempos 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração das soluções: salina; salina + cremofor; EH da *H fruticosa* (20, 100 e 500mg/Kg i.p.); Morfina (10mg/Kg i.p.; Cristalia – Brasil); Morfina + Naloxona (5mg/Kg i.p.; SIGMA – EUA), e o EH da *H fruticosa* (500mg/Kg i.p.) + Naloxona. Foram utilizados 8 camundongos por experimentos.

8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os valores obtidos foram expresso como média $\pm$ o erro padrão da média (EPM) e submetidos ao teste de normalidade pelo Método de Smirnorf-Kolmogorov. A diferença das médias entre os grupos experimentais foi avaliada pela análise de variância de um fator (ANOVA), seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey (pos-hoc). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Utilizamos para as análises o programa Prisma 3.0 para os experimentos de dor e depressão central.

Para o experimento de Toxicidade aguda a análise foi baseada no modelo Log Probito utilizando o programa Origen 6.0. Para a dose-resposta ter sido a classificação provável da dose verídica, a mesma foi transformada em escala de $\log(x)$.

IV. RESULTADOS

Todos os resultados descritos neste trabalho apresentaram distribuição normal segundo o teste de normalidade com $p < 0.05$ que nos permitiu a utilização da estatística paramétrica para análise dos resultados.

1. TOXICIDADE AGUDA - DL₅₀

No primeiro modelo experimental toxicidade aguda - DL₅₀, verificou-se que o extrato da *H. fruticosa* nas doses 1, 2, 3, 4 e 5g/Kg apresentaram número de mortes dos animais em 24 horas abaixo de 50% do total, e nos sobreviventes nenhuma influência da toxicidade no peso corpóreo em 14 dias.

A ANOVA evidenciou que a diferença de peso após os 14 dias da ingestão do extrato, nas doses descritas acima, não apresentou diferenças significativas, demonstrando não produzir efeito prejudicial ao organismo.

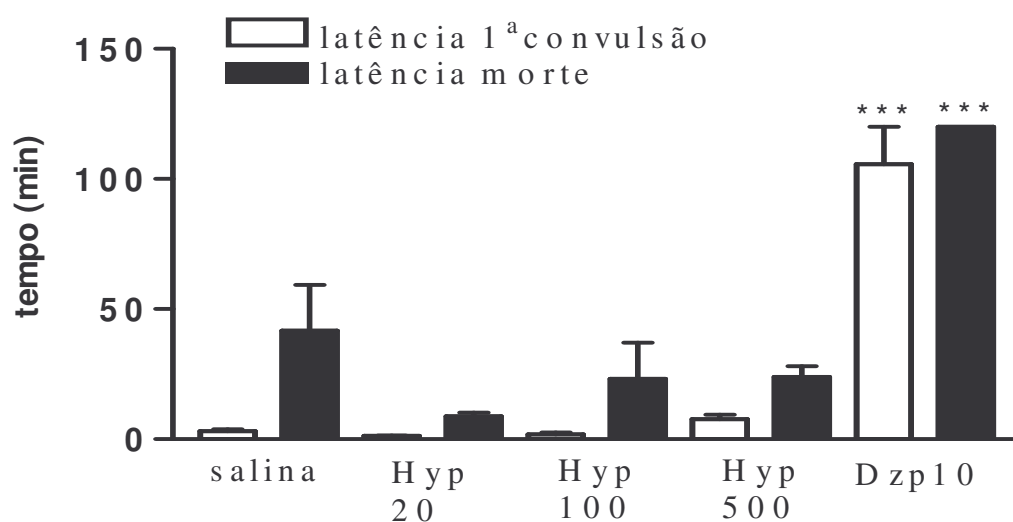
2. TESTE CONVULSÃO INDUZIDA PELO PENTILENOTETRAZOL

Os efeitos do EH da *H. fruticosa* e do Diazepan foram avaliados no teste de convulsão induzida pelo Pentilenotetrazol PTZ (60mg/Kg), revelando diferença significativa entre os grupos experimentais com $p < 0,0001$. O grupo controle positivo tratado com Diazepan obteve resultado $p < 0,001$ (FIG. 10). Resultado também demonstrado na tabela 1 pela comparação e porcentagem de inibição das convulsões.

TABELA 1: Comparativo e porcentagem da média do número de convulsões induzida por PTZ tratados com o E.H. da *H. fruticosa* em camundongos.

Composto	N	Média de convulsões em 120'	% do Total de convulsões em relação à média
Salina 1ml/10g	6	4	100%
Diazepan 5mg/Kg	6	0	0%
Hyptis 20 mg/Kg	6	2.25	56%
Hyptis 100mg/Kg	6	2.25	56%
Hyptis 500mg/Kg	6	2.75	68.75%

Fonte: Pesquisadora, 2005

FIGURA 5: Comparativo das médias das latências em minutos para o início e morte em convulsões induzidas por PTZ tratados com E.H.da *H. fruticosa* (i. p.) em camundongos.*** $P < 0.001$

Fonte: Pesquisadora, 2005.

3. TESTE SONO INDUZIDO POR BARBITÚRICO

No Modelo Sono induzido por Tiopental (60mg/Kg), os resultados, da latência para a perda do reflexo de endireitamento, foram evidenciados não haver diferença significativa entre os grupos experimentais (FIG 11). Já quanto à recuperação (duração) do reflexo, apresentando $p < 0,0001$ (FIG 12).

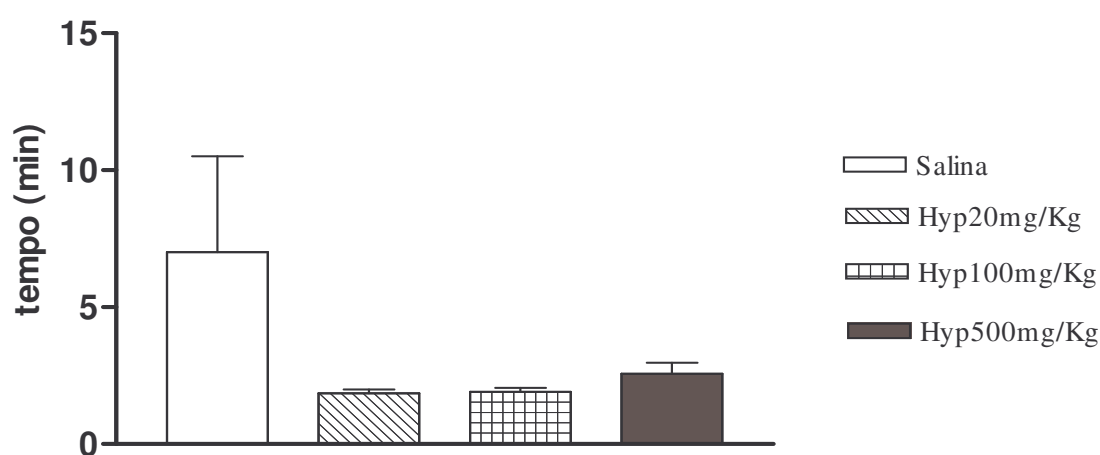


FIGURA 6: Comparativo do efeito hipnótico/sedativo do E.H. da *H. fruticosa* (i. p.) quanto à latência para o início do sono induzido por tiopental em camundongos.

Fonte: Pesquisadora, 2005.

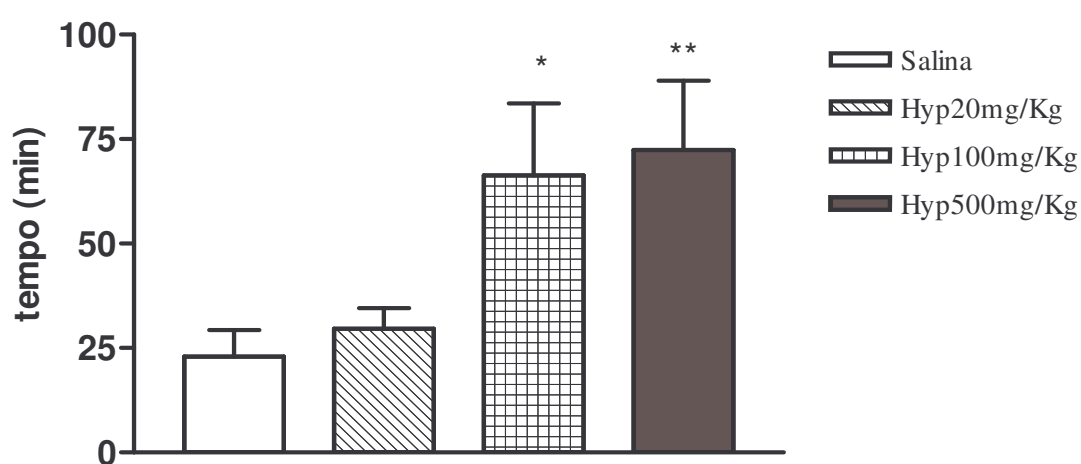


FIGURA 7: Comparativo do efeito hipnótico/sedativo do E.H. da *H. fruticosa* (i. p.) na duração do tempo de sono induzido por tiopental em camundongos.

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

Fonte: Pesquisadora, 2005.

4. TESTE CONTORÇÃO ABDOMINAL INDUZIDA POR ÁCIDO ACÉTICO

Os efeitos da antinocicepção do EH da *H. fruticosa* foram testados pelo teste de Contorção abdominal induzida pelo ácido acético (6%), com diferença significativa entre os grupos experimentais ($p < 0,0001$) para o número de contorções abdominais registrados durante 20 minutos (FIG.13).

A inibição do EH da *H. fruticosa* e da Morfina nas contorções foram observados pela porcentagem segundo a fórmula $A-B/A \times 100$, (Kerharo; Adams, 1974 IN: FRANZOTTI, 2000, 275p.) como descrito na TABELA 2.

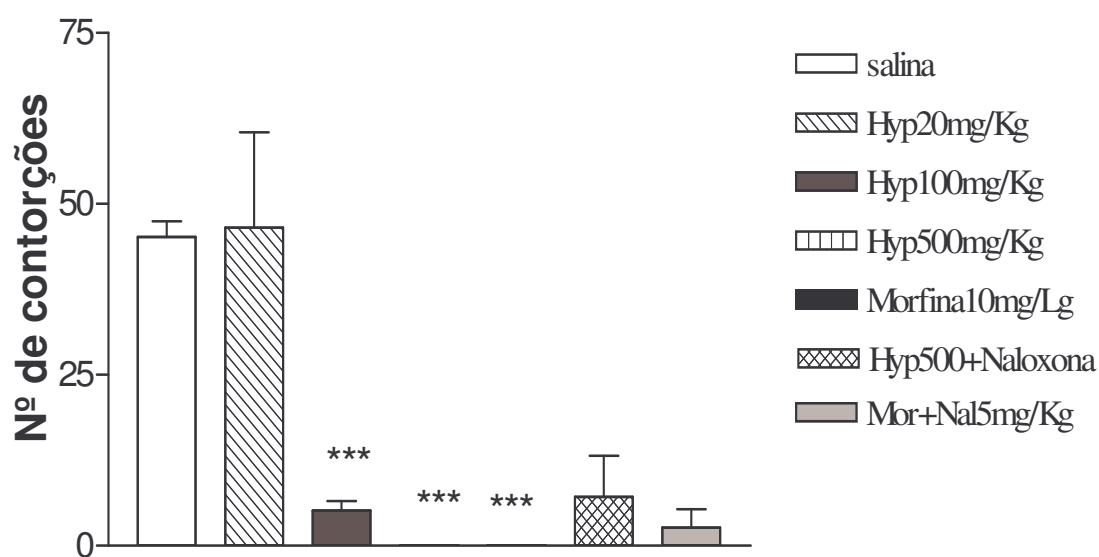


FIGURA 8: Efeito antinocicepção do E.H.da *H. fruticosa* (i. p.) e morfina (i.p.) pelo número de contorções no teste de contorção abdominal induzido por ácido acético em camundongos.

*** $P < 0.001$

Fonte: Pesquisadora, 2005.

TABELA 2: Efeito da antinocicepção do EH da *H. fruticosa* (i. p.) e morfina (i.p.) contados em porcentagem (%) de inibição no teste de contorção abdominal induzido pelo ácido acético em camundongos.

Droga	% de Inibição
Salina	0%
<i>H. fruticosa</i> 20mg/Kg	-2.94%
<i>H. fruticosa</i> 100mg/Kg	88.56%
<i>H. fruticosa</i> 500mg/Kg	100%
Morfina	100%
Morfina + Naloxona	94.83%
<i>H. fruticosa</i> 500mg/Kg + Naloxona	89.48%

Fonte: Pesquisadora, 2005

5. TESTE “TAIL-FLICK”

Os efeitos do EH da *H. fruticosa* e da Morfina foram testados no teste “Tail-flick” durante 120 minutos com intervalo de 30 minutos.

Os resultados, da latência para retirada da cauda 30 minutos após a injeção das drogas, estão mostrados na Fig 14, que evidenciou diferença significativa entre os grupos experimentais com $p < 0,0001$. Para o tempo de latência para retirada da cauda em 60 minutos os resultados foram evidenciados na Fig 15, tendo $p < 0,0001$. A latência no tempo, 90 minutos, foram mostrados na Fig 16, que revelou $p < 0,0001$. E as latências para retirada da cauda em 120 minutos, estão mostradas na Fig 17, apresentando $p < 0,0001$.

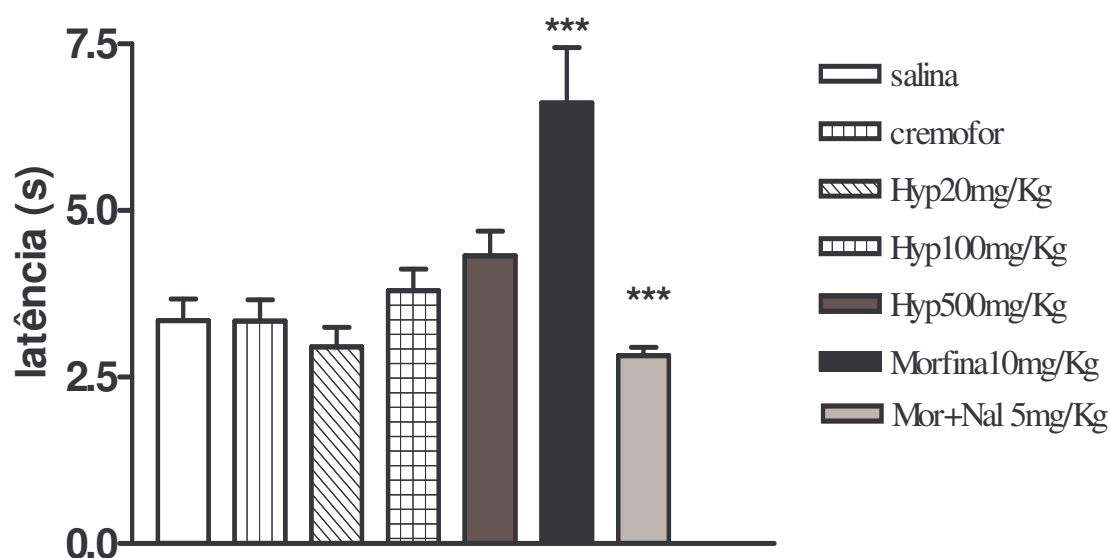


FIGURA 9: Tempo de latência para a nocicepção dos camundongos tratados em 30' com E.H. da *H. fruticosa* no teste "Tail-flick"

*** $P < 0.001$

Fonte: Pesquisadora, 2005.

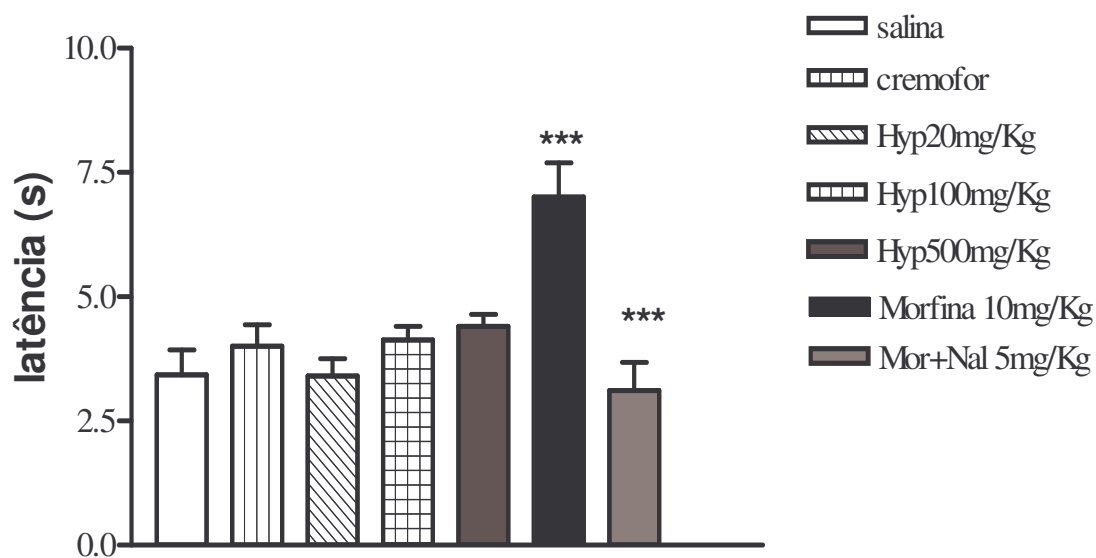


FIGURA 10: Tempo de latência para a nocicepção dos camundongos tratados em 60' com E.H. da *H. fruticosa* no teste "Tail-flick"

*** $P < 0.001$

Fonte: Pesquisadora, 2005.

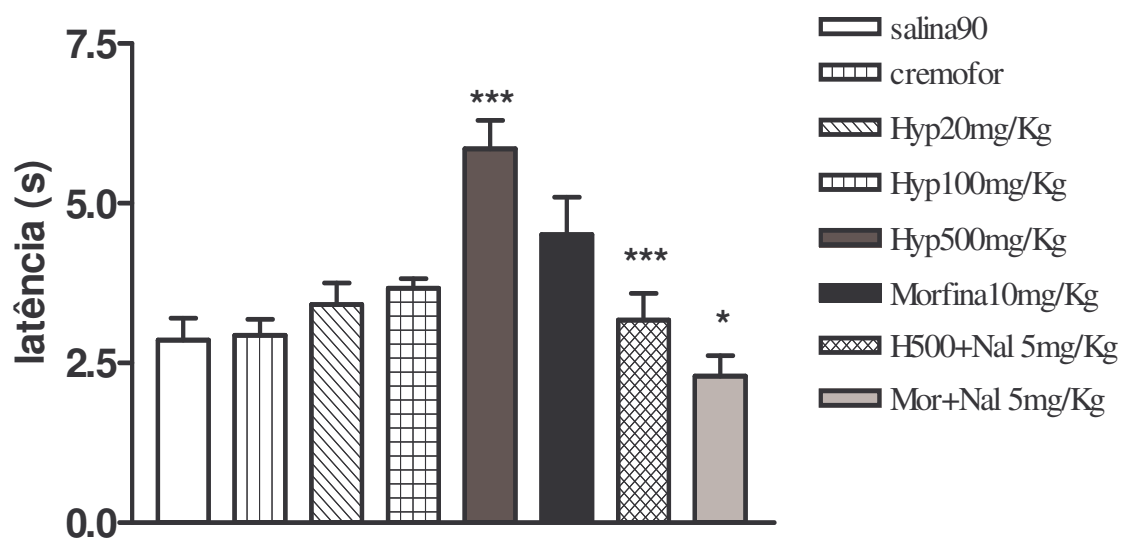


FIGURA11: Tempo de latência para a nocicepção dos camundongos tratados em 90' com E.H. da *H. fruticosa* no teste "Tail-flick"

*** $P < 0.001$

Fonte: Pesquisadora, 2005.

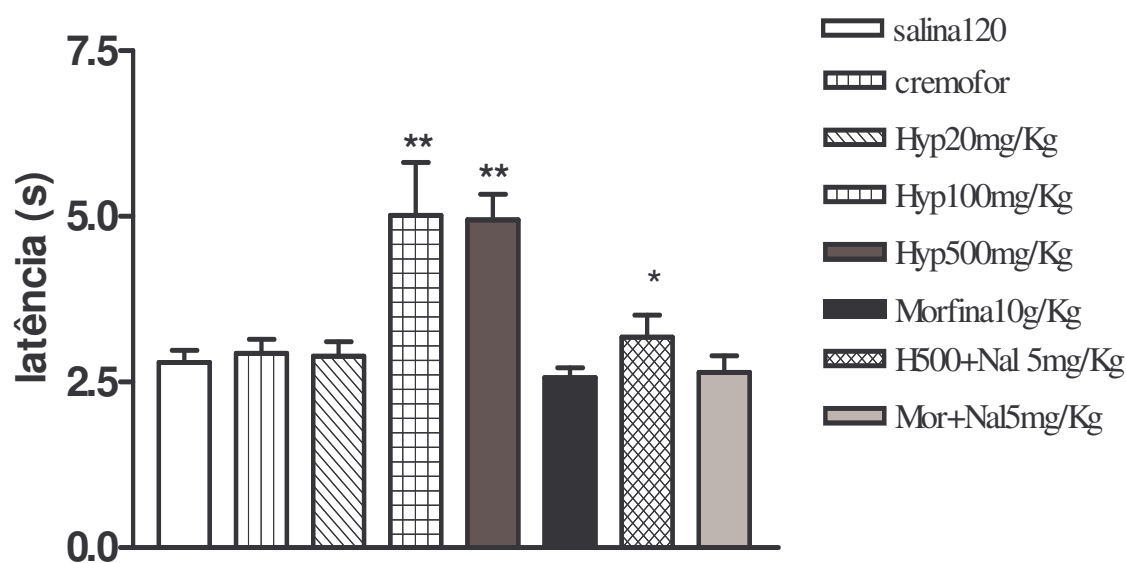


FIGURA 12: Tempo de latência para a nocicepção dos camundongos tratados em 120' com E.H. da *H. fruticosa* no teste "Tail-flick"

* $P < 0.05$ e ** $P < 0.01$

Fonte: Pesquisadora, 2005.

Os resultados, da latência da Morfina no teste "Tail-flick" para o tempo 30, 60, 90 e 120 minutos, foram evidenciados na FIG 18. A ANOVA revelou diferença significativa entre os grupos experimentais com $p < 0,0001$.

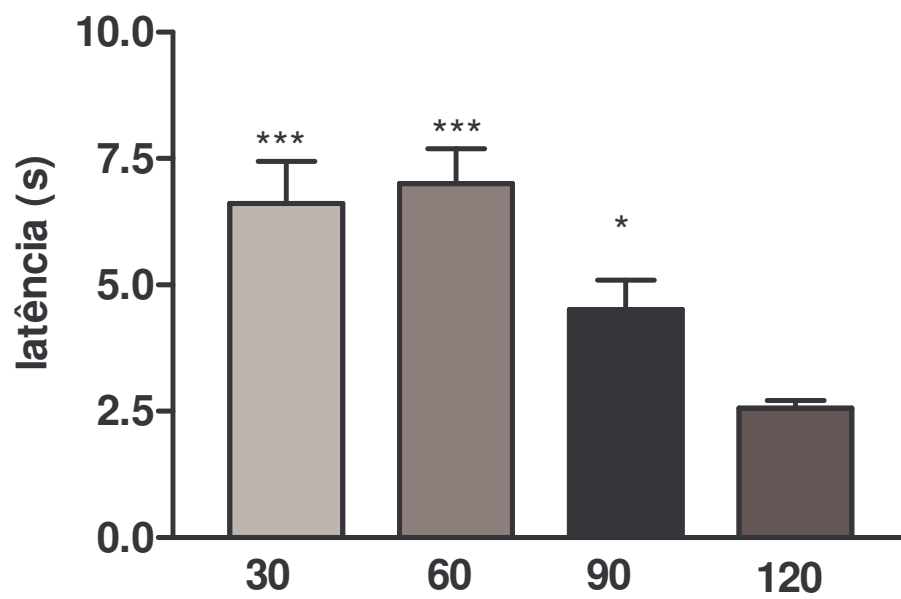


FIGURA 13: Evolução do efeito da morfina, em relação ao tempo, sobre a latência para retirada da cauda no teste Tail-flick.

* $P < 0.05$; *** $P < 0.001$

Fonte: Pesquisadora, 2005.

V. DISCUSSÃO

A toxicidade aguda foi o modelo experimental utilizado para determinar os efeitos adversos e deletérios da *H. fruticosa* nesta pesquisa pré-clínica em camundongos para o reconhecimento do efeito tóxico, em que a mesma revelou de baixa toxicidade.

Foram utilizados grupos com pequeno número de animais, N=06, modificando a metodologia adotada pela ANVISA que utiliza N=10 por grupo. Segundo Huerta et. al. (2003) e Padilla (1999) se faz necessário o reconhecimento dos efeitos tóxicos de espécies vegetais como fator importante para posterior aplicação de doses terapêuticas. Entretanto Shlede (2005) relata que é cada vez maior a preocupação com o número de animais utilizados, apresentando o modelo reconhecimento pela Organization for Economic Co-Operation e Development (OECD), onde preconiza a utilização da toxicidade aguda com o número menor de animais conforme nossa utilização.

Os sinais de caráter geral causados pelo extrato hidroalcoólico da *H. fruticosa* observados foram diminuição da locomoção e do tônus muscular com indícios forte de efeito do extrato sobre o sistema nervoso central. Segundo Silva (2000) o estado de relaxamento muscular é visto nos casos de depressão do sistema nervoso através do efeito sedativo/hipnótico.

Gorestein; Scavone (1999) e Rodriguez; Saad (2002) corroboram com Silva (2002) em que agonistas ao neurotransmissor GABA também aumentam a eficácia da abertura dos canais de cloro-seletivo sem alterar o tempo médio dessa abertura; justificando assim atividade antinociceptiva, sedativa e miorrelaxante.

Os efeitos obtidos no teste de convulsão induzido por pentilenotetrazol não demonstraram atividade de proteção do EH da *H. fruticosa* semelhante ao agonista do

benzodiazepínico, o grupo controle positivo Diazepan, que em relação ao grupo tratado inibiu 100% das convulsões ($p < 0,001$), por provavelmente atividade GABAérgica no sistema nervoso central como Rodriguez; Saad (2002) relatam ser esse efeito por influxo de cloro na célula. O que não foi observado pelo extrato que provocou um aumento do número de convulsões à medida que tinha suas doses aumentadas.

Efeito contrário foi observado no grupo EH da *H. fruticosa* 500mg/Kg que apresentou média de convulsão maior nos grupos tratados. Segundo Kandel (2000) e Silva (2002) o efeito paradoxal dose-dependente pode ser observado, como é o caso da morfina, que produz excitação do SNC como agitação, mioclonia e convulsão. Atividade essa provocada pela hiperatividade das células CA1 piramidais por déficit do nível de GABA, segundo Bernard (2000) e acordado por Kasture et al (2000), que evidenciam o aumento dos níveis de acetilcolina no córtex cerebral e no hipocampo responsáveis pela letalidade dos estados epilépticos, como visto neste estudo que apresentou índice elevado de morte.

Ao teste do sono induzido pelo tiopental (60mg/Kg), o grupo EH da *H. fruticosa* 100mg/Kg e 500mg/Kg apresentaram resultado significativo quando comparados ao grupo controle, $p < 0,05$ e $p < 0,01$; e EH da *H. fruticosa* 500mg/Kg em relação ao grupo EH da *H. fruticosa* 20mg/Kg, $p < 0,05$, apresentou efeito hipnótico/sedativo aumentando a duração do tempo de sono induzido, atividade corroborada por Mendelson (1996) quando demonstrou um aumento no sono pelo pentobarbital com atuação no receptor benzodiazepínico GABA.

Com relação ao receptor envolvido, Kamei et al (1996), concluiu que o tempo de duração do sono é resultante da ativação de receptores opióides do tipo μ quando submetidos a morfina sem envolvimento dos receptores δ ou κ , evidência esta demonstrada pela antagonização realizada com as drogas antagonistas específicas a esses receptores.

Para Barreto (2002) existe uma relação entre o sono e a epilepsia, onde o grupo com epilepsia idiopática apresentou menor tempo de sono, com redução no sono tipo NREM, fase

4, em relação ao grupo com epilepsia focal idiopática. Essa relação não foi observada neste trabalho uma vez o extrato provocou aumento no tempo de duração do sono mas não na latência para o início do mesmo, e não sendo neste trabalho correlacionado com o teste de convulsão induzida. E segundo Silva (2002) a capacidade de induzir e manter o sono é uma característica da depressão do sistema nervoso central através do efeito sedativo/hipnótico.

A nocicepção química abdominal de longa duração, teste de contorção abdominal, necessita que o agente seja introduzido para produzir tal resposta. A intensidade, por sua vez, está diretamente ligada à interação de vários eventos neuromoduladores e neurotransmissores (LAPA, 2003; BARS, 2001).

As doses do EH da *H. fruticosa* 100mg/Kg e 500mg/Kg nas contorções abdominais diminuíram significativamente ($p < 0,001$ e $p < 0,001$), efeito semelhante ao observado a Morfina ($p < 0,001$), porém, ao ser submetido a antagonização da droga Naloxona o efeito não foi revertido. A Naloxona é um antagonista opióide que segundo Silva (2002) e Bermack; Debonnel (2005) essa antagonização é de ação mais comum nos receptores μ , δ e κ .

Frutuoso (1998) apresenta a relação da reversão pela Naloxona indicando a ação analgésica de efeito central, enquanto Franzotti et al (2000) e Bispo et al (2001) relatam a possibilidade de uma outra forma de inibição, sendo a periférica pelos antiinflamatórios não-esteróides, por influenciar os níveis de ácido araquidônico metabolizado pela ciclooxigenase e pela biossíntese de prostaglandinas, o que não pode ser elucidado com o EH da *H. fruticosa*, pelo tipo de antagonização realizada.

A dor térmica é uma resposta nociceptiva reflexa (Burs et al, 2001) com atividade espinhal e supra-espinhal, tendo como primeiro centro integrador responsável pelos estímulos térmicos às lâminas I, II e/ou V da medula espinhal segundo Teixeira (1999), Lundy-Ekman (2000) e Pinto (2000).

Seguindo este conhecimento, Bonney (2004) utiliza o teste “Tail-flick” para apresentar resultados antinociceptivo da substância P no corno dorsal da espinha medular de ratos.

Dentre os 4 tempos de aplicação do estímulo térmico, os tempos de 30 e 60 minutos demonstraram que só a morfina revelou diferença significativa $p<0,0001$ e sua atividade antagonizada nos mesmos tempos com $p<0,001$ e $p<0,01$ respectivamente.

Guarna et al (2005) sugere que os receptores opióides estão envolvidos com a Morfina endógena na modulação termonociceptiva por apresentar níveis mais elevados desses receptores e complementando Guarna et al (2005) e Silva (2002), também referenciam serem esses receptores sitiados nas lâminas I e II do corno dorsal da medula espinhal, SCPA, núcleos da rafe locus ceruleus e outros.

Langerman (1995) relata que o teste “Tail-flick” demonstra latência diferente ao “Hot plate” quando se testa a morfina e segundo Ardid et al (2003) o efeito da morfina é por atuar na redução de entrada de Ca^{++} nos canais de voltagem. Para Pinto (2002) dentre as três células, ON, OFF e Neutras, as OFF são as únicas estimuladas pela morfina, que na realidade são inibidas pelas células ON GABAérgicas. Heinricher (2001) relata outra atividade das células OFF quando são ativadas pela atividade da colescistocinina modulando as células ON e OFF na medula ventro medial rostral, principalmente na regulação das células OFF.

A atividade antinociceptiva do EH da *H. fruticosa* 500mg/Kg foi observada nos tempos 90 e 120 minutos com $p<0,0001$ e $p<0,01$ quando comparado ao grupo controle. Ao comparar o EH da *H. fruticosa* 100mg/Kg, 120 minutos, com o grupo controle, obteve diferença significativa, $p<0,01$ apresentado o EH da *H. fruticosa* 500mg/Kg uma atividade farmacocinética diferente da morfina, revelando $p<0,001$ no tempo 120 minutos.

O efeito antagonizado pelo naloxona revelou que a dose de melhor efeito EH da *H. fruticosa* já apresentou diferença significativa desde os 90 minutos com $p<0,001$, em relação à

morfina com $p < 0,05$, demonstrando assim, efeito farmacocinético diferente do grupo controle positivo, sendo diminuída esta atividade no tempo 120 minutos.

Segundo Lapa (2003) o perfil farmacológico da antinocicepção é observado com a ação de mediadores químicos em sítios de receptores periféricos ou centrais. Esse experimento demonstra assim atividade de antinocicepção de agonistas evidenciado pelo extrato em estudo e antagonista farmacológico ao naloxona, demonstrando atividade GABAérgica.

Essa atividade ficou bem evidenciada pela antagonização da droga naloxona que é evidenciada por Silva (2002) e Bermack; Debonnel (2005) com uma ação de antagonização nos receptores μ , δ e κ .

VI. CONCLUSÃO

A *Hyptis fruticosa*, uma planta nordestina utilizada pela população como aromatizante e descongestionante tem demonstrado potencialidade fitoterápica para fins terapêuticos.

O extrato hidroalcoólico das folhas da *H. fruticosa* não apresenta malefício ao organismo animal, por ter baixa toxicidade aguda sem alterar a absorção alimentar, demonstrado pelos animais, ao final dos 14 dias, que não tiveram alteração nos seus pesos.

Provavelmente o receptor μ é responsável pelo envolvimento na atividade opióide, já que Silva (2002) e Bermack; Debonnel (2005) apontam a naloxona como responsável pela antagonização nos receptores μ , δ e κ , como foi observado nos grupos experimentais dos teste de contorção abdominal, com inibição de 100% idêntica ao resultado da morfina e comportamento semelhante também encontrado na nocicepção térmica, teste “Tail-flick”.

A atividade nos receptores μ também foi influenciada, pelo extrato, na duração do tempo do sono, como relata Kamei et al (1996), quando aponta o receptor tipo μ o responsável por essa atividade.

Na realidade é preciso existir uma integração do sistema serotonina-adrenalina-endorfina-GABA para que haja a modulação antinociceptiva, que envolve várias estruturas do sistema nervoso central, tais como, lâminas I, II e/ou V, núcleos magno da rafe, Substância cinzenta periaquedutal, locus ceruleus e o Bulbo raquidiano ventro medial rostral.

Para os avanços nas pesquisas no sentido da triagem farmacológica, para futuramente produzir medicamento a base deste extrato, faz-se necessário estudo clínico para comprovar os efeitos desse extrato em seres humanos e continuidade da pesquisa pré-clínica para maiores elucidações da atividade do extrato hidroalcoólico da folhas da *Hyptis fruticosa*.

VII. REFERÊNCIAS

_____, The New York Botanical Garden. Disponível em: <http://sidsite.nybg.org/herbim/2850/v-285-00000643big.jpg>. Acessado em: junho de 2004.

ALMEIDA, C. F. C. B. R.; ALBUQUERQUE, U.,P. Check-list of the Family Aminiaceae in Pernambuco, Brazil. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 45, n.3, Curitiba, set, 2002, 343-53p.

ANDERSEN, M. L.; D'ALMEIDA, V.; KO, G. M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P. J. F.; DE MAGALHÃES, L. E.; TUFIK, S. **Princípios Éticos e Práticos do Uso de Animais de experimentação**. UNIFESP: Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, 2004, 14-134p.

ANDREATINI, R. A Importância dos Modelos Animais Em Psiquiatria. **Rev. Bras. Psiquiatr.** v.24, n.4, 2002, 164p.

ANDREATINI, R. Uso de Fitoterápicos em Psiquiatria. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v.22, n.3, 2000, 104-05p.

ARDID, D.; LAMBERTY, Y.; ALLOUI, A.; COUDORE-CIVIALE, M. A.; KLITGAARD, H.; ESCHALIER, A. Antihyperalgesic effect of levetiracetam in neuropathic pain models in rats. **Journ. of Pharmacol.** v.473, n.1, jul, 2003, 27-33p.

BALLALAI, A. L. M. e colaboradores. O sono, destacando o sonho, o ritmo biológico e a insônia. **Rev. de Psicofisiol.** v.3, n.1-2, 1999, [s.p.].

BARRETO, J. R. S.; FERNANDES, R. M. F.; SAKAMOTO, A. C. Correlation of sleep macrostructure parameters and idiopathic epilepsies. **Arq. Neuro Psiquiatr.** v.23, jun, 2002, 353-57p.

BARS, D. L.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal Models of Nociception. **Rev Pharmacol.** v.53, n.4, 2001, 597-652p.

BERMACK, J. E.; DEBONNEL, G. The Role of Sigma Receptors in Depression. **J. Pharmacol. Sci.**, v. 97, 2005, 317-36 p.

BERNARD, C.; COSSART, J. C.; HIRSCH, J. C.; ESCLAPEZ, M.; BEN-ARI, Y. What is GABAergic Inhibition? How Is it modified in Epilepsy? *Epilepsia*, v.41, s.6, 2000, 90-5p.

BISPO, M. D.; MOURÃO, R. H./ FRANZOTTI, E. M.; BONFIM, K. B.; ARRIGONIBLANK, M. F.; MORENO, M. P.; MARCHIORO, M.; ANTONIOLLI, A. R. Antinociception and antiedematogenic effects of the aqueous extract of *Hysptis pectinata* leaves in experimental animals. **J. Ethnopharmacol.**, v.76, n.1, 2001, 81-86p.

BONNEY, I. M.; FORAN, S. E.; MARCHAND, J. E.; LIPKOWSKI, A. W.; CARR, D. B.; Spinal antinociceptive effect of AA501 a novel chimeric peptide with opioid receptor agonist and tachykinin receptor antagonist moieties. *European Journal of Pharmacology*, v.488, n.1-3, mar 2004, 91-99p.

CAMBUI, E. V. F.; ESTEVAM, C. S.; DANTAS, M. C.; AIRES, A. V. B.; RIBEIRO, J. R. F. L.; MARCHIORO, M.; NOBRE, M. Z. A.; ANTONIOLLI, A. R. O extrato etanólico da

Lippia microphilla previne convulsões e causa analgesia em roedores. **Resumos do XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Cuiabá, MT, 2002, [s.p.].

CARLINI, E. A **Portaria nº 116/MS/SNVS**, de 8 de agosto de 1996. Disponível em: www.farmacia.med.br/temasdesaude/legislacao2.asp?id=38. Acessado em: junho de 2005.

CARLINI, E. A.; CONTAR, J. de D. P.; SILVA, FILHO, A. R.; DA SILVEIRA FILHO, N. G.; FROCHTENGARTEN, M. L.; BUENO, O. F. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. **J. Ethnopharmacol.**, v.17, n.1, 1986, 37-64p.

DANTAS, M. C.; AIRES, A. V. B.; ANTONIOLLI, A. R.; MARCHIORO, M. Atividade sobre o sistema nervoso central do extrato aquosos bruto da *lippia microphilla*. **Resumos da XVI Reunião Anual da FESBE**, Caxambu, MG, 2001, f.206.

DARLISON, M. G.; PAHAL, I.; THODE, C. Consequences of the Evolution of the GABA receptorGene Family. Cellular and Molec. **Neurobiolog.** v.25, n.3-4, 2005, 607-24p.

De ARAÚJO, M. C. M. et al. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores, comunicação XLV. Primeiras observações sobre dois novos quinonóides isolados de *Hyptis fruticosa* Salzm ex Benth. (Labiatae). **Rev. Inst. Antibiot.** Recife, v. 14, n.1-2, dez, 1974, 101-04p.

DOUGLAS, C.R. Tratado da Fisiologia Aplicada às Ciências da Saúde. **Robe**: São Paulo, 1994, cap.14.

ENNA, S.J., HARSTAD, E.B., MCCARSON, K.E. Regulation of neurokinin-1 receptor expression by GABA (B) receptor agonist. **Life Scienc.** v.62, 1998, 1525-30p.

FENG_a, Y.; CUI, M.; WILLIAM, W. D. Gabapetin markedly reduces acetic acid-induced visceral nociception. **Anesthesiolog.** v.98, n.3, mar. 2003, 729-33p.

FENG_b, Y.; CUI, M.; WILLIAM, W. D. Effect of anticonvulsant and its relation-ship with amino acid neurotransmitters release from spinal cord. **Being Da Xue Xue Bao.** v.18, n35, s.3, jun, 2003, 307-10p.

FRAGOSO, Y. D. Excitação GABAérgica e inibição glutamatérgica no controle farmacológico da dor. **Rev. Simbid.** v.1, n.1, mar. 2000, 34-42p.

FRAGOSO-SERRANO, M.; GONZALEZ-CHIMEO, E.; PEREDA-MIRANDA, R. Novel labdane diterpenes from the insecticidal plant *Hyptis spicigera*. **J. Nat. Prod.**, v.62, n.1, 1999, 45-50p.

FRAGOSO-SERRANO, M.; GIBONS, S.; PEREDA, M, R. Anti-staphylococcal and cytotoxic compounds from *Hyptis pectinata*. **Planta Méd.**, v. 71, n.3, mar, 2005, 278-80p.

FRANZOTTI, E. M.; SANTOS, H. M. S. L.; RODRIGUES, R. H. V.; MOURÃO, M. R.; ANDRADE, A. R. ANTONIOLLI. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). **J. of Ethnopharmacol.** v.72, 2000, 273-78p.

FRUTUOSO, V. S. Estudo Farmacológico da Atividades Analgésicas e Anti-ulcerogênicas presentes em folhas da planta *Vernonia condensata* Baker. 1998. Catalogo de Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - **Fundação Oswaldo Cruz**, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

GORENSTEIN, C.; SCAVONE, C. Avanços em psicofarmacologia- mecanismos de ação de psicoarmacos hoje. **Rev. Bras. Psiquiatr.** v.21, n.1, 1999, 64-73p.

GUARNA, M.; GHELARDINI, C.; GALEOTTI, N.; STEFANO, G. B; BIANCHI, E. Neurotransmitter role of endogenous morphine in CNS : **Med Sci Monit**, v.11, n.6, 2005, 190-93p.

HEINRICHER M. M.; McGARAUGHTY; TORTORICIV. Circuitry underlying antinociceptive actions of cholecystokinin within the rostral ventromedial medulla. **J. of Neurophysiol.** v.85, 2001, 280-86p.

HUERTA, E. I.; RODRIGUES J. E. T.; RAMÍREZ, D. F.; MARTÍNEZ, R. M.; PADILLA, M. C. L. Toxicologia aguda oral de la decocción la *Peperomia pellucida* (L) HBK (Corazón de hombre). R.E.T.E.L.- **Rev. Toxicolog.**, 2003, 1-10p.

HUNTER, J. C. GOGAS, K. K.; HEDLEY, L. R.; JACOBSON, L. O.; KASSOTARIS, L.; THOMPSON, J.; FONTANA, D. J. The effect of novel anti-epileptic drugs in rat experimental models of acute and chronic pain. **Eur. J. Pharmacol.** v.18, n.324(2-3), apr, 1997, 153-160p.

KAMEI, J.; OHSAWA, M.; NAGASE, H. Possible involvement of μ_2 opioid receptor-mediated mechanisms in morphine-induced enhancement of the pentobarbital-induced loss of the righting reflex in the mouse. **Life Scienc.** v.59, n.22, 1996, 349-53p.

KANDEL, E. R.; SCWARTZ, J. H.; THOMAS, M. J. Fundamentos da Neurociência e do Comportamento. [s.e.]. **Guanabara Koogan**: Rio de Janeiro, 2000, 306-07p.

KASHIWADA, Y.; WANG, H. K.; NAGAO, T.; KITANAKA, S.; YASUDA, I.; FUJIOKA, T.; YAMAGISHI, T.; COSENTINO, L. M.; KOZUKA, M.; OKABE, H.; IKESHIRO, Y.; HU, C. Q.; YEH, E.; LEE, K.H. Anti-AIDS agents 30. Anti-HIV activity of oleanolic acid, pomolic acid, and structurally related triterpenoids, **J. Nat. Prod.**, v.61, n.9, 1998, 1090-95p.

KASTURE, V, S.; CHOPDE, C, T.; DESHMUKH, V, K. Anticonvulsive activity of *Albizia lebbach*, *Hibiscus rosa sinensis* and *Butea monosperma* in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacol.** v.71, 2000, 65-75p.

KUHNT, M.; PROBSTLE, A.; RIMPLER, H.; BAUER, R.; HEINRICH, M. Biological and pharmacological activities and further constituents of *Hyptis verticillata*. **Planta Med.**, v.61, n.3, 1995, 227-32 p.

LANGERMAN, L.; MARK, I. Z.; PISKOUN, B.; GRANT, G. J. Hot plate versus tail flick: Evaluation of acute tolerance to continuous morphine infusion in the rat model. **J. of Pharmacol. and Toxicol Method.** v.34,n.1, sep. 1995, 23-7p.

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

LAUSÁN, D., P.; ALONSO, A., J., P. Nuevo Enfoque Conceptual de La Epilepsia. **Rev. Cubana Pediatr.** v.73, nº4, 2001, 224-9p.

LEE, K. H.; LIN, Y. M.; WU, T. S.; ZHANG, D. C.; YAMAGISHI, T.; HAYASHI, T.; HALL, I. H.; CHANG, J. J.; WU, R. Y.; YANG, T. H. The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens*, and *Hyptis capitata*: ursolic acid and related derivatives. **Planta Med.**, v.54, n.4, 1988, 308-11 p.

LENT, R. Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência. Editora **Atheneu**: São Paulo, 2002, 171-232p.

LUNDY-EKMAN, L. Neurociência. Fundamentos para a Reabilitação. [s.e.]. **Guanabara Koogan**: Rio de Janeiro, 2000, 347p.

MARCHIORO, M.; BLANK, M. F. A.; MOURÃO, R., H., V.; ANTONIOLLI, A., R. Anti-nociceptive activity of the aqueous extrat of *Erythrina velutina* leaves. **Fitoterap.** v. 76, 2005, 637-42p.

MATSUDE, I. T.; LIM, Y. A.; HATTORI, M.; CORREA, M.; GUPTA, M. P. A search for anti-viral properties in Panamaian medicinal plants. The effects on HIV and its essential enzymes. **J. Ethnopharmacol.** v.64, n.1, 1999, 15-22 p.

MELO, G. B.; SILVA, R. L.; MELO, V. A.; LIMA, S. O.; ANTONIOLLI, A. R.; CASTRO-E-SILVA, t.; MÁRCASSA, L. G.; BAGNATO, U. U.; ZUCOLOTO, S.; RAMALHO, L. N.; RAMALHO, F. S.; CASTRO-E-SILVA O, Jr. Enhancement of liver regeneration by the association of *Hyptis pectinata* with Laser Therapy. Dig. **Dis Sci.**, v. 50, n.5, mai, 2005, 949-54.

MENDELSON, W. B. Sleep induction by micro injection of pentobarbital into the medial preoptic area in rats. **Life Scienc.** v.59, n.22, 1996, 1821-28p.

MENDES, C. C. L.; MENDES, C. C.L.; FONSECA, E. V. Panorama do sono e dos sonhos. **Rev. de Psicofisiol**, v.2, n.1, 1997 [s.p.].

MOLLEREAU, C.; ROUMY, M.; ZAJAC, J. M.; Opioid-modulating peptides: mechanisms of action. **Curr Top Med Chem**, v.5, n.3, 2005, 341-555p.

MORENO, M. P. N.; SIMOTE, S., BARRETO, P., CASTRO, Y. C. S., FERNANDES, J. B. Constituintes Químicos de *Hyptis Fruticosa* (LAMIACEAE). **6ª Jornada Científica da UFSCar**, 2005.

NOGUEIRA E.; VASSELIEFF, V. S. Hipnotic, anti convulsant and musclerelaxant effectsof *Rubusbrasiliensis*.Involvement of GABA_A – System. **J. of Ethnopharmacol.** v.70, 2000, 275-80p.

NOVELO, M.; CRUZ, J. G.; HERNANDEZ, L.; PEREDA-MIRANDA, R.; CHAI, H.; MAR, W.; PEZZUTO, J. M. Cytotoxic constituents from *Hyptis verticillata*. **J. Nat. Prod.**, v. 56, n. 10, 1993, 1728-36 p.

OHI, M.; MARINHO, A. J.; KLEMZ, C.; SANTANA, G. M.; DALSENTER, P. R. Toxicidade Aguda do Fipronil (FrontLine) em Ratos. In: 9º Evento de Iniciação Científica da UFPR, 2001, Curitiba. **Anais ...**, 2001, 271 p.

OLIVEIRA, P. C. U. Ecofisiologia de *Hyptis fruticosa* Benth. (Alecrim de Tabuleiro-Lamiaceae). Aracaju. Catalogo de Dissertação de Mestrado da **Universidade Federal de Pernambuco**- Biologia vegetal. Recife/ PE, 1997.

PADILLA, M. C. L.; ALFONSO, I. C.; MOLINA, J. J.; FREIXAS, L. C.; GÓMES, C. L. Toxicologia aguda oral del *Eucalyptus saligna* SM por el método de las classes. **Rev. Cuban. Plant. Méd.** v.3, n.2, 1999, 87-90p.

PAULA, J. R.; SALES, B. H.; SANTOS, S. C.; OLIVEIRA, C. M. A.; LIÃO, L. M. FERREIRA, P. H.; FERREIRA, H. D. Óleos Essenciais de representantes de *Hyptis* e *Marsypianthes* (Lamiaceae) Coletados no Cerrado/GO. **Universidade Federal de Goiás**, Campus II, C.P 131, Goiânia, GO. Disponível em: <http://www.sbp.org.br/ranteriores/23/resumos/1375-1>. Acessado em: mar, 2005.

PEREDA-MIRANDA, R.; HERNANDEZ, L.; VILLAVICENCIO, M. J.; NOVELO, M.; IBARRA, P.; CHAI, H.; PEZZUTO, J. M. Structure and stereochemistry of pectinolides A-C,

novel antimicrobial and cytotoxic 5,6-dihydro-a-pyrones from *Hyptis pectinata*. **J. Nat. Prod.**, v. 56, n. 4, 1993, 583-93 p.

PINTO, M. S.C. A percepção da Dor: Receptores Envolvidos. **R.F.M.L.**, Série III, v.5, n.5, set/out, 2000, 253-62p.

REKLING, J. C.; FUNK, D. F.; BAYLISS, D. A.; DONG, XIAO-WEI.; FELDMAN, J. Sinaptic Control of Motoneuronalexcitability. **Physiolog. Reviews**, v.80, n.2, apr. 2000 768-816p.

RESENDE, M. H.; DIAS, H. F.; PEREIRA, D. N.; ZUNGARO, P.; COUTINHO, C. A.; LEITE, R. H. S. B.; NASCIMENTO, V. P.; FARIAS, M. T.; SCHLIEWE, M. A. Anatomia Foliar de Quatro Espécies de *Hyptis* (*Labiatae*) Ocorrentes em Goiás. Departamento de Biologia Geral da **Universidade Federal de Goiás**. Disponível em: <http://www.adatech.com.br/evento/museugoeldi/resumoshtm/resumos/R0613-1.htm>.

Acessado em: abril de 2005.

RODRIGUEZ, M, T, B.; SAAD, H, P. Efectos agudos Del extracto del *Cestrum nocturnum* (galán de moche) sobre diferentes modelos de epilepsia experimental. **Rev.Cubana Plant. Méd**, v. 2002, n.2, maio-ago, 2002.

ROJAS, A.; HERNANDEZ, L.; PEREDA-MIRANDA, R.; MATA, R. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. **J. Ethnopharmacol**, v.35, n.3, 1992, 275-83 p.

ROSSETTO, E. G.; et all. Epidemiologia da Dor em Crianças, adultos e Idosos. **Arq. Bras. Neurocir**, v. 18,n.4, 1999, 213-24p.

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Implicações do Sistema Serotoninérgico no exercício físico. **Arq. Brás. Endocrinol. Metab.**, v.48, n.2. São Paulo, apr. 2004, 227-33p.

SALGADO, P. C, B.; de SOUZA, E. A. P. Variáveis Psicológicas Envolvidas na qualidade de vida de Portadores de Epilepsia. **Est. de Psicolog.** v.8, nº1, 2003, 165-168p.

SANTOS, H. S.; LEMOS, T. L. G.; PESSOA, O. D. L.; COSTA, S. M. O.; UCHÔA, D. E. A.; SILVEIRA, E. R. H. Application to strture Elucidation of Prenylated Naphthquione Dmrs from *Lippia microphyla*. **Ann. Magn. Reson.**, v.1, nº 1, 2002, 54-61p.

SCHAIBLE, H. G.; RICHTER, F. Phathophysioogy of pain. **Langenb. Arch. Surg.** v. 389, 2004, 237-43p.

SILVA, R, L.; MELO, G, B.; ANTONIOLLI, A, R.; LIMA, S, O.; MELO, V. A.; RAMALHO, F, S.; RAMALHO, L, N, Z.; ZUCOLOTO, S; CASTRO-E-SILVA O, Jr. Effect of the Aqueous extrat of *Hyptis pectinata* on hepatocyte proliferation after partial hepatectomy. **Acta Cirúrgica Bras.**, v.17, s3, 2002.

SILVA, P. **Farmacologia**. 6ª ed. Guanabara Koogan: Rio de janeiro, 2002, 110-462p.

STARKEY, C. Recursos Terapêuticos em Fisioterapia. 2^a ed. Editora **Manole**: São Paulo. 2001, cap 2.

TEIXEIRA, M. J.; YENG, L. T.; MONTAGNINI, M.; CALVIMONTES, R. C. P. Dor em Doentes com Lesão raquimedulares. **Arq. Neurocir.** v.18, n.4, 1999, 203-12p.

VALADÃO, C. A. A.; UQUE, J. C.; FARIAS, A. Administração Epidural de Opióides em Cães. **Cienc. Rur**, Santa Maria, v.32, n.2, 2002, 347-355p.

VIII. APÊNDICE