

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

SHEYLA ALVES RODRIGUES

TOXICIDADE AGUDA E EFEITOS ANALGÉSICO E
DEPRESSOR DO EXTRATO AQUOSO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera (quitoco).

Aracaju - SE

2007

SHEYLA ALVES RODRIGUES

**TOXICIDADE AGUDA E EFEITOS ANALGÉSICO E
DEPRESSOR DO EXTRATO AQUOSO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera (quitoco).**

Dissertação do Curso de Mestrado em
Ciências da Saúde do Núcleo de Pós-
Graduação em Medicina da UFS, para
obtenção do título de mestre.

Área de concentração: Estudos Clínicos e
Laboratoriais em Saúde.

ORIENTADOR: PROF. DR. MURILO MARCHIORO

Aracaju - SE

2007

SHEYLA ALVES RODRIGUES

**TOXICIDADE AGUDA E EFEITOS ANALGÉSICO E
DEPRESSOR DO EXTRATO AQUOSO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera (quitoco).**

Dissertação do Curso de Mestrado em
Ciências da Saúde do Núcleo de Pós-
Graduação em Medicina da UFS, para
obtenção do título de mestre.

Área de concentração: Estudos Clínicos e
Laboratoriais em Saúde

Data da defesa: ___/___/___.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Murilo Marchiolo
(DFS/UFS)

Prof. Dr. Lauro Xavier Filho
(NPSA/UNIT)

Prof. Dr. Márcio Roberto Viana dos Santos
(DFS/UFS)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Mandaley e João,
pelo apoio, carinho e compreensão a mim cedidos.

Ao meu esposo, Francisco, pela compreensão e
companherismo de todas as horas.

Ao meu irmão, Jan Kleber por estar sempre perto nas
horas necessárias.

Aos meus cunhados, Líbia, Emerson e Hallison, pelo
estímulo dado em minha caminhada.

Ao meu orientador Dr. Murilo Marchioro, por me
adentrar em novos caminhos do conhecimento e sua
presença marcante em todo o trabalho.

Ao amigo Dr. Lauro Xavier Filho, por me ensinar os
primeiros passos dessa longa jornada.

Meu muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ser o guia de meus passos e ajudar a tornar real os meus anseios.

À meus pais Mandaley Alves Rodrigues e João Rodrigues Sobrinho pelos ensinamentos, carinho e estímulo.

À meu irmão pelos momentos de apoio e carinho a mim direcionados.

À meu esposo Francislo Lopes de Souza Júnior, pelo seu companheirismo, compreensão, amizade e carinho durante esta caminhada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Murilo Marchioro, pela paciência ao me guiar pelos caminhos do conhecimento no qual pretendo continuar trilhando.

Aos familiares pela força e por acreditarem que eu conseguiria vencer mais uma etapa.

À meus professores, por dividirem conosco um pedaço de sua sabedoria.

À meus colegas de curso, pelos momentos de alegria, seriedade, amizade, respeito, confiança e muitos outros sentimentos que partilhamos nestes dois anos.

Aos professores Dr. Márcio Roberto Viana dos Santos e Dr.^a Rosilene Moretti Marçal, pela ajuda na quebras de obstáculos para realização deste trabalho.

Às secretárias do curso Martha Suzano, Maria Jolinta de Melo Matos e Bruna Brito da Silva, pela atenção a nós concedida e por estarem sempre apostos para solucionar dúvidas e atender nossas necessidades.

À minha querida e eterna professora e amiga Ana Maria Guedes por ouvir meus devaneios e ajudar para que eu mantivesse meus pés no chão e meu pensamento direcionado e claro para alcançar meus objetivo.

À direção do Instituto de Tecnologia e Pesquisa na figura dos Prof.es MSc. Júlio Holanda e MSc. Marcos Wandir, pela compreensão durante essa caminhada.

Às colegas e amigas de trabalhos pela descontração e pelo ombro amigo nos momentos de aflição e dúvida.

E a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para esse esperado momento.

Meu muito obrigada!

EPÍGRAFE

*Se o homem soubesse antes que iria chover,
ele não se molharia,
Se ele soubesse antes que a poluição destruiria o mundo,
ele reciclaria suas idéias,
Se ele soubesse antes que haveriam guerras,
Ele talvez não tivesse descoberto a pólvora,
Se o homem soubesse tudo antes,
Ele sofreria menos e sonharia mais.
www.g1.com.br*

RESUMO

A *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera, da Família Asteraceae, é uma planta da Mata Atlântica utilizada na medicina tradicional no tratamento de inflamação, assim como de doenças digestivas e respiratórias. O objetivo deste trabalho de dissertação foi estudar os possíveis efeitos do extrato aquoso das folhas de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera, sobre o Sistema Nervoso Central em modelo murino, e, como a toxicidade aguda do extrato. A Toxicidade Aguda ou DL₅₀ foi obtida pela administração das doses 1000, 2000 e 3000mg/Kg, segundo a legislação de medicamentos fitoterápicos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), não sendo observado efeito tóxico. As possibilidades de ação farmacológica foram analisadas pelo teste de triagem farmacológica que demonstrou a possível ação do extrato como depressor do SNC. O efeito anti-nociceptivo foi estudado usando dois modelos: Teste de Contorção abdominal induzida por ácido acético e Tail-Flick. No primeiro observou-se o efeito analgésico do extrato com valores de $p < 0,01$ na dose de 200mg/Kg e $p < 0,001$ nas de 100mg/Kg e 400mg/Kg, quando comparado ao grupo controle. O Tail-Flick confirmou o efeito analgésico do extrato com valores de $p < 0,001$, nos tempos de 30 e 60 minutos para todas as doses, destacando-se a dose de 400mg/Kg que manteve $p < 0,001$ após 120 min. No Teste de Tempo de Sono Induzido por Barbitúrico observou-se diferença significativa com $p < 0,05$ para retornar o reflexo de endireitamento e $p < 0,001$, no tempo total de sono, para todas as doses, com destaque para a dose de 400 mg/Kg que apresentou melhor efeito. Assim os testes de contorção abdominal, Tail-Flick e tempo de sono induzido por barbitúrico confirmaram o efeito depressor dessa planta sobre o sistema nervoso central identificado inicialmente pela triagem farmacológica e a medicina tradicional.

Palavras-chave: *Pluchea sagittalis*, toxicidade aguda, depressor, anti-nocicepção.

ABSTRACT

The *Pluchea sagittalis* (Lam) Cabreira, Family Asteraceae, is a plant of the Atlantic Rainforest used in traditional medicine for the treatment of inflammation, as well as of digestive and respiratory diseases. The objective of this dissertation work was to study the possible effects of the aqueous extract of *Pluchea sagittalis* (Lam) Cabreira, on the Central Nervous System and acute toxicity in mice. This plant is used in traditional medicine for the treatment of inflammation, as well as of digestive and respiratory diseases. The Acute Toxicity (DL₅₀) was gotten by the administration of the doses 1000, 2000 and 3000 mg/Kg, in according to legislation by National Agency of Sanitary Vigilance (ANVISA), but not being observed toxic effect. The possibilities of pharmacological actions had been analyzed by the test of “screening pharmacological” that showed the possible action of the extract as depress of the CNS. The anti-nociceptive effect was evaluated by using two models: acetic acid induced writhing and Tail-Flick test. In the first one was showed the analgesic effect of the extract with values of $p > 0,01$ in the dose of 200mg/Kg and $p < 0,001$ in the dose of 100 and 400 mg/Kg, when compared with the control group. The Tail-Flick test confirmed the analgesic effect of the extract with values of $p < 0,001$, for all the doses, in the time of 30 and 60 minutes, with detach it 120 minutes after dose of 400 mg/Kg that kept $p < 0,001$. On the sleep-induced by thiopental the extract was showed significance with $p < 0,05$ at the return of the righting reflex and $p < 0,001$, in the total time of sleep, for all the doses, with detach for the dose of 400 mg/Kg that showed the best effect. Thus the tests acetic acid induced writhing, Tail-Flick and sleep-induced by thiopental come to confirm the effect depress of this plant on the central nervous system initially identified for the screening pharmacological e for the traditional medicine.

Keywords: *Pluchea sagittalis*, acute toxicity, depress, anti-nociceptive.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Pluchea sagittalis</i> (Lam.) Cabreira	19
Figura 2 – Resumo dos mecanismos moduladores da via nociceptiva	29
Figura 3 – Terminações das fibras aferentes nas seis camadas do corno dorsal da medula espinhal	32
Figura 4 – Aplicação intra-peritoneal	42
Figura 5 – Aparelho de Tail-Flick, demonstrando o treino realizado com os animais antes da realização dos testes	44
Figura 6 - Animal recobrando o reflexo de endireiramento	46
Figura 7 - Contorção abdominal em camundongos	48
Figura 8 – Representação gráfica da latência da cauda dos camundongos, 30 minutos, no Teste de Tail Flick	50
Figura 9 – Representação gráfica da latência da cauda dos camundongos, 60 minutos, no Teste de Tail Flick	51
Figura 10 – Representação gráfica da latência da cauda dos camundongos, 120 minutos, no Teste de Tail Flick	52
Figura 11 – Tempo de latência do sono induzido por barbitúrico	53
Figura 12 - Tempo de duração do sono (em minutos) induzido por barbitúrico	54

SUMÁRIO

1. Introdução.....	12
2. Revisão Bibliográfica	15
2.1. Plantas Medicinais: Breve Histórico	15
2.2. Fitoterapia	16
2.3. <i>Pluchea sagittalis</i> (Lam.) Cabrera e sua ação Farmacológica	18
2.4. Toxicidade Aguda	22
2.5. Psicofármacos	24
2.6. Dor	25
2.6.1. Receptores Sensoriais	26
2.6.2. Fisiologia da Dor	28
2.6.3. Condução do Impulso	31
2.6.4. Analgesia	33
2.7. Hipnóticos	35
3. Objetivos	37
3.1 Geral	37
3.2 Específicos	37
4. Metodologia	38
4.1. Material Botânico	38
4.2. Obtenção do Extrato	38
4.3. Animais	39
4.4. Modelo de Toxidade Letal (DL ₅₀)	40
4.5. Triagem Farmacológica Comportamental	41
4.6. Teste da Contorção Abdominal (Ácido Acético 0,6%)	42
4.5. Teste de “Tail-Flick”	43
4.6. Tempo de Sono Induzido por Barbitúrico	45
5. Análise Estatística	46
6. Resultados	47
7. Discussão	55
8. Conclusão	60

4. Referências Bibliográficas	61
10. Anexos	66

1. Introdução

Os benefícios da medicina alternativa são milenarmente conhecidos, sendo estudadas por vários pesquisadores na intenção de isolar substâncias de origem vegetal com ação terapêutica. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 80% da população mundial utiliza plantas medicinais no tratamento de agravos à saúde (BORGES *et al.*, 2006).

No Brasil, a dificuldade na aquisição de medicamentos sentida por milhões de pessoas que não podem comprar e dependem exclusivamente do Sistema Único de Saúde, fere um dos pilares da constituição, na qual: “saúde é um direito universal de todos os cidadãos brasileiros”. O não acesso ao medicamento leva a um agravamento das enfermidades, sofrimento individual e familiar, além da perda da qualidade de vida e prejuízos relacionados ao trabalho e geração de renda (LA CRUZ, 2005).

O acesso aos medicamentos é um componente essencial de inclusão social, de busca da equidade. Assim, a fitoterapia é um dos tipos de terapias alternativas mais disseminadas na população, no caso do Brasil esse fato tem respaldo na miscigenação da população acumulando o conhecimento, principalmente, dos povos indígenas, africanos, europeu, além da biodiversidade do país (LOW; ROOD; BERESFORD, 1999).

A generosa biodiversidade brasileira, tradição na utilização de plantas medicinais e a dificuldade do acesso aos serviços de saúde pela população mais carente favorece à aplicação da medicina natural como alternativa terapêutica, em toda sua extensão territorial. As formas mais divulgadas dessa utilização são os chás, infusões, banhos, pomadas, entre outros, manipuladas muitas vezes por raizeiros que associam

determinadas plantas à cura de certas enfermidades baseado no conhecimento empírico passado de geração a geração (SOUZA, *et al.*, 2004).

O isolamento de princípios ativos de plantas como a rutina e pilocarpina, extraídas de plantas medicinais fez voltar o interesse da comunidade científica em explorar os potenciais biológicos da fauna e flora de países como o Brasil. (CUNHA; SILVA; ROQUE, 2003).

Dois fatores estão relacionados ao uso de plantas medicinais com fins terapêuticos, um é o baixo custo e facilidade de obtenção; podendo ser encontradas em feiras livres e a segunda é sua fácil utilização através de decoctos, infusões, banhos, sucos, xaropes e cataplasmas, muitas vezes indicada por curandeiros e benzedeiros (VIEIRA, 2001).

Muitas das plantas medicinais brasileiras possuem atribuições terapêuticas relacionadas ao Sistema Nervoso Central (SNC), sendo que cerca de 5% desse potencial é cientificamente comprovado (VAZ; MATA; CALIXTO, 1997). Exemplo disso são a *Cannabis sativa* e a *Atropa belladonna* que tiveram um longo histórico de utilização empírica pelos Incas e egípcios, respectivamente, e que atualmente são conhecidas por suas ações sobre o Sistema Nervoso Central (SNC) (ALMEIDA, 2006).

Embora exista um arsenal de medicamentos disponíveis para uso terapêutico humano, atualmente apenas uma pequena parcela desses é voltada para tratamento de distúrbios do SNC como esquizofrenia, epilepsia, distúrbios do sono, síndrome do pânico, entre outros. Considerando o enorme potencial terapêutico de plantas brasileiras ainda não estudadas, abre-se o espaço para criação de novas alternativas de tratamento que permita o fácil acesso, custo reduzido e baixa toxicidade.

O mercado mundial de fitoterápicos é considerado promissor, na ordem de 20 a 40 bilhões de dólares em 2002. Alguns compostos apresentam destaque comercial como

os alcalóides vincristina, vimblastina e taxol, os quais são anticancerígenos que alcançam altos valores no mercado mundial (PERECIN; BOVI; MAIA, 2002).

Dentre as várias plantas brasileiras a *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabreira é segundo Lorenzi e Matos (2002), indicada no tratamento de dores, distúrbios gástricos, dispepsias nervosas e histerismo, o que a inclui entre de plantas de possíveis efeitos sobre o sistema nervoso.

Em Aracaju, *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabreira é comumente encontrada em raizeros, feiras públicas e culturas caseiras de plantas medicinais, sendo empregada como analgésico e calmante. Pérez-García e colaboradores (2001), descrevem a função anti-inflamatória dessa planta destacando também seu potencial anti-oxidante.

Atualmente, o conhecimento científico sobre as ações farmacológicas da *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabreira, relacionam-se a atividade anti-inflamatória, analgésica, carminativa estomática, antioxidante e anti-tumoral. Porém, a utilização popular dessa planta como calmante ainda não é cientificamente comprovada, fato que motivou o desenvolvimento desse trabalho na tentativa de identificar os benefícios da *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabreira no organismo humano em relação ao SNC.

2. Revisão da Literatura

2.1. Plantas Medicinais: Breve Histórico

Desde épocas remotas da humanidade as plantas medicinais desempenham um importante papel na humanidade. Registros da medicina demonstram que os povos egípcios, persas, hebraicos, hindus e chineses utilizavam ervas para a cura de quase todos os tipos de enfermidades, conhecendo seus benefícios e malefícios, através de relatos de determinadas plantas com capacidade de matar se utilizada de forma errada (VIEIRA, 2001).

Os hindus e chineses foram os primeiros povos a utilizarem o poder curativo das plantas. Esse conhecimento foi disseminado a 3.000 a.C. pelo Imperador Chinês Cho-Chuin-Kei, que estimulou o cultivo dessas plantas. Em cerca de 2.300 a.C., os egípcios cultivavam algumas espécies e fabricavam purgantes e vermífugos, e posterior aplicação dos conhecimentos das ervas na Escola de Medicina. Na Grécia Antiga, Hipócrates, passou a tratar as enfermidades com ervas medicinais, com conhecimento do calor tóxico e terapêutico de muitas plantas (MELLO; XAVIER-FILHO, 2000).

Na idade antiga, dentre todas as coletâneas referentes ao uso de plantas medicinais, o que mais teve destaque é a *História Natural*, por Gaius Plinius Secundus de Roma. Nesta coletânea são escritas várias notas de plantas usadas em rituais místicos, lendas e superstições, algumas delas, porém, possuíam fundamentos (LOW; ROOD; BERESFORD, 1999).

O processo cultural de utilização das plantas medicinais na prevenção e cura de enfermidades é baseada na troca de conhecimentos entre diferentes culturas e da transmissão desses conhecimentos por ancestrais. Sendo assim, uma utilização das

planta de forma empírica, sem base científica, mas que faz parte de um conjunto de princípios dos povos que as utilizam (MELLO; XAVIER-FILHO, 2000).

2.2. Fitoterapia

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 80% das pessoas dos países em desenvolvimento dependem da medicina tradicional para suas necessidades básicas de cuidados com a saúde, sendo destas, cerca de 85% voltam a terapia para o uso de plantas medicinais, significando que em média 3,5 a 4 milhões de pessoas dependem de plantas como fontes de drogas (BORGES *et. al.*, 2006).

O termo fitoterapia tem origem do grego *Phyton*, que significa planta, e *Terapeía*, que significa terapia. Esse termo foi utilizado pela primeira vez pelo médico francês Henri Leclerc (1870-1955), sendo conceituada como: “fitoterapia é a ciência que se ocupa do emprego do medicamento vegetal para a cura de enfermidades humanas e animais”. Suas experiências foram registradas em livro *Lineamento di Fitoterapia*, que se tornou um clássico na medicina (WEISS, 1991).

A utilização de plantas medicinais é uma prática antiga, nem sempre relacionada ao à cura de enfermidades. Plantas como a mirra já foi muito utilizada em cerimoniais religiosos nos quais elas eram capazes de exercer contato entre os homens e os deuses. Atualmente, há rituais de limpeza do espírito como o ayuaska, no qual os membros fazem ingestão de um chá de raízes e folhas de plantas da Floresta Amazônica.

A intensa utilização das plantas medicinais como alternativa de cura, principalmente nas populações carentes ou com dificuldade ao acesso à saúde pública, motivou estudos sobre a utilização terapêutica de várias plantas, surgindo como consequência o desenvolvimento e comercialização de produtos classificados como

fitoterápicos, regulamentados atualmente pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Entretanto, esse tipo de terapia ainda não é aceito como especialidade médica pelo Conselho Nacional de Medicina, embora haja uma corrente a seu favor composta pelos médicos naturalistas (VENÂNCIO, 2006).

Como conseqüência do crescimento no uso de fitoterápicos no Brasil a partir do século XIX, criou-se a Portaria nº22 editada em 30/10/1967, elaborada pelo Ministério da Saúde, pelo já extinto Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e da Farmácia, que estabeleceu para emprego de preparações fitoterápicas. Essa portaria foi substituída pela Portaria nº 6, de 31 de janeiro de 1995, da ANVISA, e renovada pela Resolução RDC nº 17, de 24 de fevereiro de 2000 (www.ms.gov.br, 2006).

Existe uma crença que diz “o que vem da planta não faz mal”, justificativa essa utilizada por várias pessoas para o uso indiscriminado de plantas na tentativa de cura de enfermidades. Segundo Vaz; Mata; Calixto (1997) é prudente que a população e profissionais que usam plantas medicinais tenham consciência de que esse conceito é errado, considerando que a utilização de partes erradas ou concentrações equivocadas de algumas plantas podem gerar intoxicações graves.

São genericamente denominados fitoterápicos todos os medicamentos originados de plantas voltados à ação terapêutica a partir de princípios biologicamente ativos. Em 1997, no Brasil já se registrava a comercialização de vários medicamentos fitoterápicos com origem em extratos de plantas, compostos isolados ou mesmo a parte da planta triturada, com ações anti-depressora, analgésica, vasodilatadora, anti-inflamatória, calmante, entre outras (VAZ; MATA; CALIXTO, 1997).

A atividade biológica das plantas medicinais estão diretamente relacionadas à compostos secundários classificados como alcalóides, terpenóides (óleos essenciais,

flavanóides, carotenóides e terpenos) e compostos fenólicos (taninos, ligninas), entre outros (RAVEN, 2003).

2.3. *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera e sua ação farmacológica

A *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera, vulgarmente conhecida por quitoco, madre cravo ou tabacarana (ver figura 1), é uma planta da Família Asteraceae que possui como sinonímia os nomes: *Gnaphalium suaveolens* Vell., *Pluchea quitoc* DC. É uma planta comum da região tropical, sendo facilmente encontrada em vários países da América, inclusive no Brasil (BARROS *et al.*, 2006).

A *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera é uma planta perene de tamanho variando entre 0,30 e 0,90 m de altura, com folhas simples e alternas e flores de coloração branca com lilás. Seu caule e folhas são muito utilizados na forma de chá para tratamento de dores corporais, inflamações e alguns distúrbios nervosos (HERBOTECNIA, 2004; LORENZI; MATOS, 2002).



Figura 1 – *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera.

Fonte: <http://www.herbotecnia.com.ar/aut-lucera.html>

O gênero *Pluchea* Cass., classificado dentro da Família Asteraceae, inclui cerca de 80 espécies, sendo a maioria distribuída na América e algumas espécies presentes na África, Ásia e Austrália (VILLASEÑOR; VILLARREAL, 2006). Há menções de atividade indutora do sono e diminuição da atividade locomotora de ratos tratados com extrato de *Pluchea indica* Less. (THONGPRADITCHOTE *et al.*, 1996).

As folhas e caules da *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera são utilizadas na forma de chá para tratamento enfermidades como dores estomacais, náuseas, vômitos, distúrbios digestivos e hepáticos, assim como estimulante intestinal atuando no controle de edemas e cólicas intestinais. A mistura das folhas dessa planta com as flores de *Rosa banksiae* resulta em uma solução de efeito laxativo e anti-ulcerativo, já quando misturada a folhas de *Malva parvifolia* e galhos de *Anethum graveolens* relata-se efeito anti-reumático (HERBOTECNIA, 2004).

A *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera é utilizada popularmente na forma de chá das folhas e talos, como alternativa terapêutica para tratamento de distúrbios digestivos, enfermidades estomacais e hepáticas, flatulências, dispepsias nervosas, inflamação uterina, renal e de bexiga, reumatismo e tratamento de distúrbios nervosos característicos da histeria (LORENZI; MATOS, 2002; HERBOTECNIA, 2004).

Na avaliação da atividade farmacológica de algumas plantas medicinais de origem brasileira demonstrou-se que o extrato aquoso de *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera possuía efeitos anti-inflamatórios, cicatrizantes e diarréicos, havendo descrição popular desta planta no tratamento destes males (SOUZA *et al.*, 2004).

Perez-Garcia e colaboradores (1996) demonstraram que o extrato aquoso de *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera possui acentuado efeito anti-inflamatório em diferentes formas de teste de edema de pata induzido por dextran e carragenana. Além de apresentar atividade antioxidante em leucócitos sanguíneos tanto em testes “in vitro” como “in

vivo”, verificando-se também a redução de radicais livres junto ao efeito anti-inflamatório desta planta.

Estudos realizados com o extrato aquoso de *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera demonstraram haver atividade citotóxica deste, em teste “*in vitro*”, com linhagens de células de tumor sólido humano de adenocarcinoma de cólon HT29 e células de câncer de pulmão NCL-H460, fator este ocorrido pela presença de princípios ativos com capacidade de inibição da proliferação das células tumorais testadas (MONKS *et al.*; 2002).

Teste utilizando extratos metanólicos de plantas medicinais brasileiras para avaliação do estresse demonstrou que algumas plantas e entre eles a *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera apresentaram atividade inibitória na síntese da proteína 72 KD produzida pelo corpo em momentos de estresse, cuja estimulação foi realizada através de testes submetendo o animal ao estresse por calor (PEREZ-GARCIA *et al.*, 2001).

A aplicação do extrato etanólico de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera em animais infectados com *Listeria* demonstraram sua atividade sobre o sistema hematopoético. Os ratos foram infectados por via intraperitoneal, o grupo tratado com o extrato por três dias consecutivos, por via oral, apresentou uma elevação no número de granulócitos e macrófagos nestes animais, como consequência houve aumento significativo da sobrevivência dos ratos infectados quando comparados com o grupo controle. Assim, o extrato etanólico da planta foi considerado um estimulador da produção de granulócitos e macrófagos (QUEIROZ *et al.*, 2000).

Os componentes químicos encontrados no óleo essencial da *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera extraído das folhas e caule por cromatografia gasosa com massa foram 1,8-cineol-eucalipitol, copaeno, β -cariofileno, β -sileno-nafitaleno, nafitalenol, fitol, além de apresentar atividade antimicrobiana *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* e *C. albicans* do

óleo essencial puro e atividade em concentrações de 50 a 12,5% no MIC (concentração inibitória mínima) (FERREIRA *et al.*, 2004).

De Souza e colaboradores (2004), ao avaliar extratos metanólicos de plantas do Rio Grande do Sul em screening microbiológicos observou-se que a *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera era uma das plantas mais ativas na inibição do crescimento de leveduras em culturas “*in vitro*” assim como a *Malva sylvestris*, *Senna neglecta*, *Ocotea odorífera*, entre outras.

O extrato etanólico das partes aéreas da *Pluchea quitoc* DC. demonstrou efeito anti-inflamatório e antinociceptivos frente a diferentes agentes químicos ou térmicos, quando administrado pela via oral, confirmando a utilização empírica da população no tratamento da dor (BARROS *et. al.*, 2004).

Testes realizados com algumas espécies da Família Asteraceae no modelo tipo ROS (espécies reativas de oxigênio) e RNS (espécies reativas de nitrogênio), demonstraram que extrato diclorometano de *B. grisebachii* e *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera, assim como o extrato aquoso da última apresentaram atividade inibitória da oxidação nos dois sistemas. (PÉREZ-GARCIA *et al.*, 2001).

A atividade analgésica e anti-inflamatória das folhas de *Pluchea quitoc* DC. é atribuída à presença das substâncias triterpênicas: stigmasterol, β -amirina, taraxasterol e pseudo-taraxasterol que foram recentemente isoladas das folhas desta planta (BORGES *et. al.*, 2006; BARROS *et. al.*, 2006)

São descritas também a atividade antiinflamatória de *Pluchea indica* Less. inibindo agentes como carragenina e cróton no que se refere à ação exsudativa, proliferativa e estágios crônicos da inflamação (SENT; NAG CHAUDHURI, 1991).

2.4. Toxicidade Aguda

Segundo os princípios da Toxicologia, todas as substâncias, independente de sua origem podem ser consideradas um agente tóxico, a depender das condições de exposição, da via de administração, do tempo de uso e sua frequência. Mediante essas condições surge a necessidade de se conhecer melhor essa substância, pois sua utilização pode ocasionar danos à saúde ao invés da cura desejada (OGA, 1996).

Qualquer substância cuja finalidade é aplicação terapêutica, deve antes passar por uma avaliação toxicológica, na qual são calculadas as doses possíveis de utilização que não gerem seqüelas ao organismo pelo seu efeito tóxico (VAZ; MATA; CALIXTO, 1997). A ANVISA possui regulamento específico no que se refere à toxicidade, Portaria nº 116, de 08 de agosto de 1996 (CARLINI, 2006).

Para fins terapêuticos um dos fatores de importância nos experimentos farmacológicos e toxicológicos é a determinação da dose-resposta (variação das concentrações para determinação da menor dose com efeito terapêutico e a maior dose sem efeito tóxico), essa é representada pela curva gaussiana, embora pouco realizada na prática (OGA, 1996).

Larini (1999), descreve que a avaliação da toxicidade pode ser realizada de duas formas: a Toxicidade Aguda, comumente conhecida como DL50, ou dose letal a 50% dos submetidos ao experimento, e a Toxicidade Crônica, na qual se deve fazer um acompanhamento da dose com mais de uma aplicação, em mesmo intervalo de tempo, com acompanhamento constante para verificar as mudanças comportamentais e morfo-fisiológicas dos submetidos.

Segundo Larini (1999), para realização dos testes de Toxicidade Aguda (DL50) devem ser tomadas algumas precauções inerentes à realização do experimento como:

- a) Variáveis do animal: espécie, idade, linhagem, gênero, alimentação;
- b) Variáveis da substância: extração, conservação, solubilidade, impureza, via de administração, velocidade, veículo e volume;
- c) Variáveis de instalação e alojamento dos animais: tipo de gaiola, temperatura, umidade, aeração, ciclo circadiano, ração, ruídos, tempo de ambientação, e outros fatores estressantes. Esse último é um dos principais pontos de cuidado para realização de testes comportamentais.

Já para Almeida (2006), o teste de toxicidade aguda é definido pelos objetivos: identificar a toxicidade intrínseca do composto; determinar as espécies mais suscetíveis à ação dele; avaliar órgãos alvos oferecendo dados sobre o modelo e permitir a seleção das doses para estudo tóxico de longa duração.

2.5. Psicofármacos

Os psicofármacos são classificados como substâncias que possuem ação direta sobre o sistema nervoso central (SNC), seja essa ação relacionada a funções mentais ou psicomotoras. A psicofarmacologia não estuda somente as substâncias, mas também como ocorre a interação dela com os neurotransmissores, permitindo o mapeamento de transtornos cerebrais não bem descritos (ALMEIDA, 2006).

Embora existam fatos descritos da história do uso de plantas ou mesmo animais com atividade psicofarmacológica, não há exatidão de quando os homens descobriram o poder curativo desses recursos, podendo ter ocorrido desde a evolução deles como bípedes, sendo que os primeiros registros datam da idade antiga pelos egípcios como o uso de atropina extraída do meimendo (ALMEIDA, 2006; RAVEN, 2003).

Fioravante (2006) relata que algumas plantas com efeito psicoativo, apresentam como consequência do uso contínuo a dependência do organismo pela substância. Dessa forma a *Cannabis sativa* L. historicamente utilizada pelos incas nos períodos de caçada, hoje, sabe-se que as substâncias ativas são o alcalóide cananiol e THC (Delta-9-tetraidrocanabinol), sendo esse último estudado no Brasil por Carlini.

Conforme Raven (2003), pode-se também descrever o uso histórico de alcalóides com ação no sistema nervoso central a exemplo da morfina extraída da papoula e a cocaína obtida das folhas de coca, sendo nessa última relatados fatos de utilização por povos antigos em momentos de fadiga e fome cessando ambas pelo ato de mastigar as folhas de coca.

Os psicofármacos são classificados em quatro grupos: psicoanalépticos ou estimulantes do SNC, psicolépticos ou depressores do SNC, psicodislépticos que são os alucinógenos e perturbadores do SNC, e parapsicotrópicos representados por drogas que não se encaixam nos grupos anteriores (ALMEIDA, 2006).

2.6. Dor

A International Association for the Study of pain define dor como “dor é uma experiência emocional com sensação desagradável associada à lesão tecidual presente, potencial ou descrita como tal”. Porém por muitos anos a dor foi associada a influências de espírito mal sobre as pessoas ou mesmo como castigo dos deuses por algum pecado cometido (STULLITEL; SOUSA, 1998).

Para Sessle (1986), a dor não pode ser considerada apenas uma sensação sensorio-discriminativa de um estímulo nocivo, mas, por uma experiência multifatorial

que pode ser modificada por ascendências cognitivas, emocionais e motivacionais relacionadas à vida das pessoas e às suas experiências passadas de dor.

No corpo humano e dos demais animais, o sistema sensorial tem um importante papel de informar ao cérebro sobre as condições do ambiente externo. Dentre as várias formas de perceber o estímulo destaca-se o sistema de nocicepção, descoberto por Sherrington em 1910, que atua na sinalização de estímulos relacionada a danos ao organismo (LE BARS; ADAM, 2002).

O tecido inflamado libera mediadores, ativando nociceptores que sensibilizados iniciam a despolarização espontânea. Esse processo denominado sensibilização periférica é responsável pela resposta dolorosa a estímulos não-dolorosos e hiperalgesia (GAMEIRO, 2004).

Evidências clínicas mostraram a relação do sistema nervoso parassimpático com a dor causada por injúria, sendo que a hiperalgesia e a alodinia resultantes da injúria tissular são relevantes para bloqueadores simpáticos ou adrenérgicos muitas vezes causada pela desordem no complexo da síndrome dolorosa sendo a reação inibitória (SAWYNOK, 2003).

2.6.1. Receptores Sensoriais

O sistema sensorial está representado pelo agrupamento de regiões do sistema nervoso interconectado com função de possibilitar as sensações. Como consequência é possível identificar a modalidade do estímulo, saber sua origem e quantificar sua energia através de três atributos: localização espacial, determinação da intensidade e determinação da duração de um estímulo (LENT, 2002).

O sistema sensorial somestésico corresponde a terminações nervosas distribuídas por todo o corpo que permite a percepção do estímulo sensorial e transferência das informações para o SNC, podendo parar com reflexo medular ou chegando a nível talâmico (GUYTON, 1988).

O sistema sensorial é dotado de receptores que proporcionam os diferentes sentidos, sendo classificados quanto à função e morfologia em: mecanorreceptores, quimiorreceptores, fotorreceptores, termorreceptores e nociceptores. Dentre os diferentes receptores o nociceptor está diretamente envolvido em estímulos que indiquem processos lesivos ao organismo, podendo ser de origem mecânica, térmica ou química (LENT, 2002).

A função primordial do sistema sensorial é a transdução do estímulo para a linguagem do sistema nervoso, em outras palavras a transdução consiste na absorção da energia gerada pelo estímulo seguido da gênese de um potencial bioelétrico tendo continuidade pela codificação que é a transformação desse potencial em potencial de ação (Op. Cit.).

Os nociceptores são encontrados em quase todos os tecidos, com exceção do SNC, porém presente nos vasos sanguíneos cerebrais e nas meninges. Esses receptores podem perceber diferentes estímulos como: mecânicos, térmicos, químicos, ou polimodais (são ativados diferentes estímulos de elevada intensidade) (LE BARS; ADAM, 2006).

Ao perceber uma lesão tecidual o organismo desencadeia uma série de respostas com liberação coordenada de mediadores inflamatórios como bradicinina, prostaglandina substância P, serotonina, entre outros, que em grupo são capazes de gerar modificações neuroplásticas periféricas ou centrais (SWIFT *et al.*, 1998 *apud* GAMEIRO, 2004).

Existem muitos neurotransmissores envolvidos no processo doloroso, podendo essa ação ser excitatória na transmissão nociceptiva como a substância P e o N-methyl-D-aspartato ou ação inibitória como a encefalina, serotonina e o ácido γ -aminobutírico (GABA), abrangendo mecanismos regulatórios pré-sináptico e pós-sináptico (SESSLE, 1996).

Os terminais nervosos sensoriais podem expressar receptores para neurotransmissores que inibem a transmissão da dor, esses foram inicialmente caracterizados na espinha dorsal podendo ser encontrado nas células da glia. Os receptores envolvidos no processo inibitório são os opióides, canabinóides e o GABAa (SAWYNOK, 2003).

2.6.2. Fisiologia da Dor

A percepção da dor em animais que não o homem torna-se mais complexo, visto que não há verbalização de tal sensação, sendo assim os modelos relacionados à dor em animais observados por padrões comportamentais como gemido, imobilidade, entre outros referido a cada grupo teste (LE BARS; ADAM, 2002).

A pele ao sofrer uma pressão por objeto perfurante, com ausência de ferimento, desencadeando uma dor focal e localizada caracterizada como dor aguda, porém se na mesma perfuração ocorrer uma lesão, a dor passa a ser difusa, não localizada e prolongada, caracterizando a dor crônica. O que difere essas duas sensações não é apenas a duração, mas também a incapacidade do sistema nervoso de restabelecer a atividade neural homeostática.

Em condições normais, a transmissão da dor ocorre através da sensibilização do SNC pela ativação de fibras aferentes de menor calibre (A- δ e C) durante uma lesão ou

estímulo tissular. Quando o nervo periférico é atingido ocorrem impulsos espontâneos que direcionam a sensibilização ao SNC, gerando quadros de hiperalgia, sendo então esse o ponto de intervenção do medicamento (WOOLF, 2004).

Durante uma injúria tissular ou inflamação são produzidos variados mediadores químicos que podem ativar os terminais dos neurônios sensoriais periféricos, esses atuam nos nervos sensoriais através da ATP, glutamato, serotonina, histamina, entre outros, sintetizados nos terminais nervosos e que têm ação excitatória. Já o Potencial Pós-Sináptico Excitatório (PPSE), pode ocorrer pela ativação direta de canais iônicos ou agentes sensibilizantes de receptores metabólicos associados à proteína G (ver figura 2) (SAWYNOK, 2003).

Durante uma lesão periférica, pode ocorrer ativação de receptores nociceptivos, gerando a condução do sinal ao sistema nervoso central, porém alguns aferentes nociceptivos podem ser “silenciosos” ou não sensíveis a esses estímulos periféricos, a não ser que sejam sensibilizados por mediadores inflamatórios (LE BARS; ADAM, 2002).

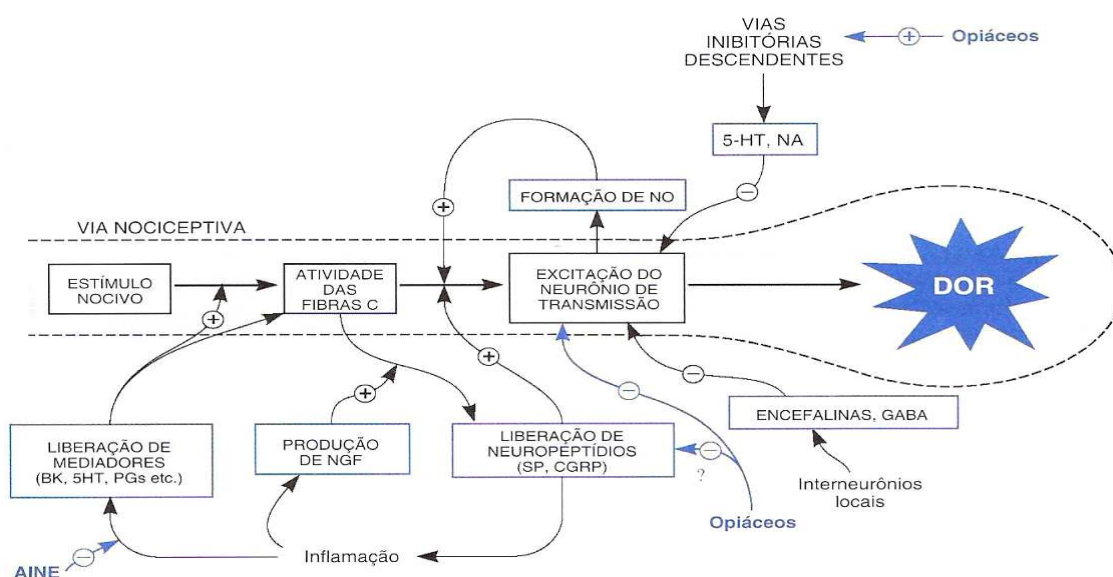


Figura 2 – Resumo dos mecanismos moduladores da via nociceptiva.

Fonte: RANG; DALE; RITTER, 2001.

A inervação periférica expressa vários tipos de neuroreceptores inibitórios, entre eles desatacam-se os receptores opióides, α -adrenérgico, adrenérgico e canabinóides, assim como agonistas desses receptores. Nessa ocasião, o efeito analgésico de muitas das substâncias comerciais encontra-se diretamente relacionado à ação sobre esses receptores (SAWYNOK, 2003).

O córtex insular tem papel importante na resposta efetiva à dor por servir como integrador das reações sensitivas com a memória da dor, já o córtex cingulado anterior encontra-se relacionado às reações comportamentais e autônomas da dor e os somato-sensoriais primários e secundários arrolados à discriminação dos estímulos nociceptivos (LUND *et al.*, 2002).

A resposta descendente ao estímulo nociceptivo pode ocorrer inicialmente pela medula, que segundo a Teoria da Comporta, após a percepção do estímulo o mecanismo de sinalização é deflagrado, com abertura de canais, mediante estímulos nociceptivos provenientes das fibras A- β (PINTO, 2002). 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. Como conseqüência, eles induzem à vasodilatação, ao edema, atração de macrófago ou das células de granulação. A produção de inflamação é chamada de inflamação neurogênica (SCHAILE; RICHTER, 2004, 237p.).

A resposta aos estímulos também ocorrer via tronco cerebral, mais especificamente a substância cinzenta periaquedutal (SCPA), lócus ceruleus e o bulbo raquidiano, além do núcleo magno da rafe. A SCPA, provavelmente, faz parte dos circuitos que controlam a transmissão nociceptiva em nível medular, através da estimulação do bulbo raquidiano que atua na mediação da dor (PINTO, 2002; SCHAIBLE; RICHTER, 2004).

Para Menezes (1999), a descoberta da substância gelatinosa no corno dorsal da medula espinal foi de importância para o entendimento da dor, pois nas lâminas I e II podem ser encontrados os receptores encefalinérgicos, GABAérgicos e os receptores opióides.

A SCPA recebe projeções do córtex pré-frontal, insular, hipotálamo, amígdala, do tronco e do bulbo raquidiano, sendo o último a maior fonte de neurônios do tronco cerebral para o corno posterior da medula espinal, 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 (PINTO, 2002).

A administração periférica, como aplicação tópica de drogas, pode otimizar o efeito da droga sobre a dor. Os nervos aferentes do sistema sensorial primário podem ser ativados por mediadores inflamatórios como prostaglandinas, bradicininas, ATP, serotonina e histamina inibindo ações estratégicas para desenvolvimento da analgesia (SAWYNOK, 2003).

2.6.3. Condução do Impulso

As fibras nervosas que constituem o Sistema Nervoso Periférico (SNP) podem ser mielínicas, onde o axônio é revestido pela bainha de mielina formada pelas células de Shwan, permitindo ao neurônio a aceleração na transmissão do sinal, e as fibras amielínicas que não apresentam tal revestimento e por conseqüência possuem condução

de sinal mais lenta. Na transmissão da dor estão envolvidos dois tipos diferentes de fibras, as A- δ que são mielinizadas e as fibras-C que são amielínicas (ver figura 3) (LE BARS; ADAM, 2002).

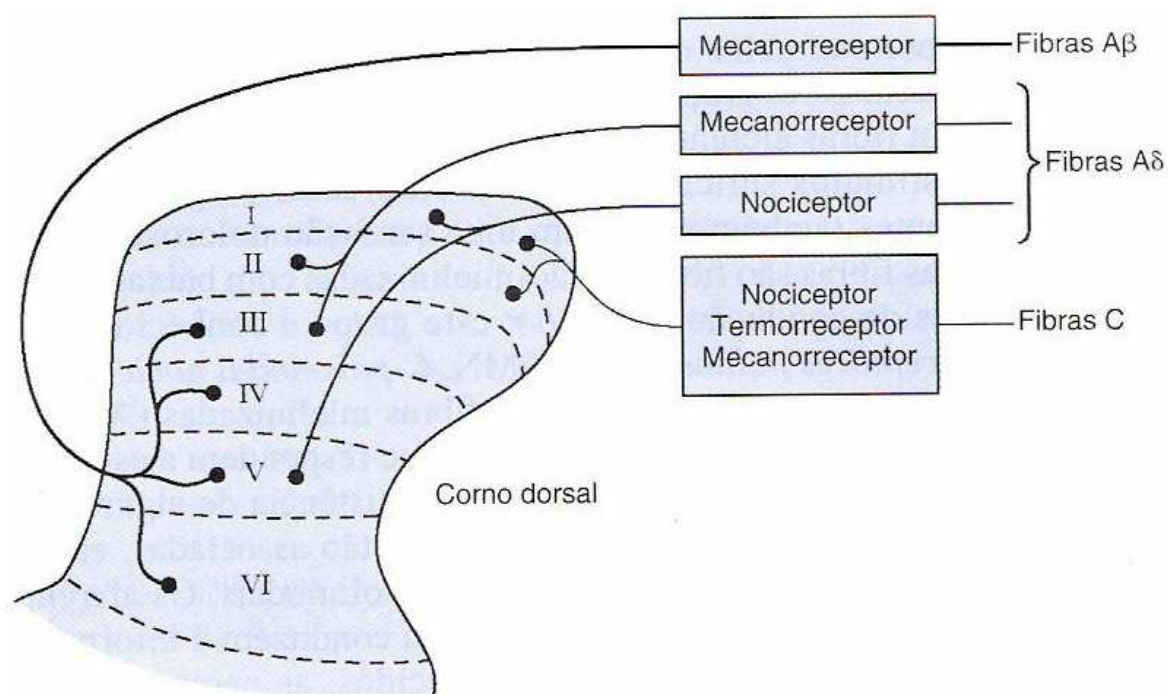


Figura 3 – Terminações das fibras aferentes nas seis camadas do corno dorsal da medula espinhal.

Fonte: RANG; DALE; RITTER, 2001.

As fibras mielinizadas A- δ são responsáveis pela sensação da dor rápida, focal e bem determinada que caracterizam a dor aguda, já as fibras-C amielínicas transmitem uma sensação de dor por queimação, difusa e sem localização específica, característica da dor crônica (SESSLE, 1986). Entretanto as fibras A- β mielinizadas, com grosso calibre e alta velocidade de condução, estão diretamente envolvidas nos processos de condução das informações táteis e na modulação do estímulo doloroso (LUND *et. al.*, 2002).

Segundo Sessle (1996), a modificação na transmissão somatosensorial pode ocorrer a nível cortical ou talâmico, porém as mudanças na informação ascendente

acontecem principalmente no complexo V do tronco encefálico. A complicada organização das subdivisões do complexo V, a interconexão entre elas e a variedade de estímulos são a base para interações existentes entre os vários estímulos derivados do tecido periférico e regiões intrínsecas cerebrais. Com isso, alterações no complexo modulador podem indicar mudanças neuroplásticas que ocorrem na resposta dos neurônios nociceptivos centrais a estímulos danosos e inflamatórios.

2.6.4. Analgesia

Fatores endógenos como: estresse, doenças, comportamento cognitivo e a própria dor, podem estar diretamente relacionados com o controle endógeno da dor. A analgesia pode ocorrer na entrada das fibras nociceptivas na medula onde fazem conexão com os neurônios de segunda ordem através de sinapses inibitórias, transmitida pelas fibras A-beta de condução tátil (CRAVO, 2005).

Existem vias antinociceptivas ou analgésicas para o controle autônomo da dor, estudos mostram que o limiar de dor e as condições de ocorrência da lesão são fatores essenciais e observados com diferenças entre os indivíduos (GUYTON, 1988).

A segunda forma de analgesia está relacionada às sinapses moduladoras, nas quais as fibras envolvidas não são as A- β e podem estar em vários níveis da via nociceptiva. Algumas dessas vias têm origem no córtex cerebral e no hipotálamo (CRAVO, 2005).

A analgesia em nível celular consiste principalmente na inibição da transmissão sináptica. Ela pode ocorrer através da diminuição da liberação de transmissores, inibição da ação do transmissor ou na redução da excitabilidade da célula pós-sináptica,

sendo o primeiro e o último os mecanismos mais descritos como fatores da analgesia (RANG; DALE; RITTER, 2001).

O bloqueio da dor pode ocorrer por duas vias; a aferente quando os mecanismos inibitórios do sistema podem estar diretamente relacionados à liberação de neurotransmissores no contato entre os neurônios na medula espinal, e a via descendente através de mediadores como serotonina e encefalina ou estimulação adrenérgica. O balanço entre excitação e inibição é influenciado pela agilidade do neurônio em levar a informação ao SNC. O bloqueio farmacológico dos mediadores GABA ou Glicina produzem uma inibição da liberação desses neurotransmissores provocando uma dor similar à neuropática (WOOLF, 2004).

Embora mais comuns no SNC, existem receptores GABA_A presentes em alguns axônios aferentes, sendo demonstrado que em situação experimental com administração periférica de muscimol (um agonista do GABA_A) em altas doses provoca a supressão da ação da formalina como agente nociceptivo, havendo uma modesta despolarização aferente inicial que decresce quando termina o potencial de ação do nervo periférico com conseqüente relação analgésica da substância (SAWYNOK, 2003).

É de amplo conhecimento de substâncias que agem no SNC, destacando-se dois grupos sintéticos; como anfetamina e benzodiazepínicos, e naturais; como cafeína, morfina e maconha, possuem efeito analgésico. Muitas das drogas de origem natural agem sobre o SNC em receptores específicos modulando a transmissão sináptica, produzindo sensações como sedação, hipnose, analgesia e alívio da ansiedade (KATZUNG, 2003 *apud* RESENDE, 2004).

Embora haja um grande número de receptores envolvidos nos mecanismos de percepção do estímulo doloroso, nesse trabalho, focar-se-á o estudo nos receptores de ação inibitória dessa sensação com base na suspeita inicial da atividade depressora da

planta, *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabreira, em estudo, segundo Lorenzi e Matos (2002) que afirmam sua utilização contra histeria.

2.7. Hipnóticos

Agentes hipnóticos são substâncias que atuam no SNC provocando o sono através do mecanismo de sedação. Tais agentes podem ser de várias origens desde analgésicos sedativos a hipnóticos benzodiazepínicos, em ambos pode-se observar a deambulação do paciente, assim como a redução ou ausência de percepção da dor (SCHATZBERG; COLE; DE BATTISTA, 2004).

Dentre os agentes hipnóticos os mais comuns são: benzodiazepínicos e barbitúricos, sendo este último de ação ultrapassada e, atualmente, utilizado como anestésicos, enquanto que a especificidade dos agentes benzodiazepínicos pelos receptores GABA provoca um processo de sedação mais eficiente que leva ao sono REM (RANG; DALE; RITTER, 2001).

As drogas de caráter sedativo podem trazer como ações coadjuvantes os efeitos ansiolítico, amnésico, anti-convulsivante e miorelaxante. Mas para serem classificados como sedativo-hipnótico elas devem agir diretamente sobre o SNC induzindo ao sono, diferente do sono fisiológico. Quando classificados entre os benzodiazepínicos essa ação sedativo-hipnótico está associada, de forma mais íntima, ao receptor GABA_A (FOLLESA *et. al.*, 2004; ALMEIDA, 2006).

3. Objetivos

3.1 Geral:

- Estudar os efeitos do extrato aquoso obtido das folhas de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera sobre o sistema nervoso central e toxicidade aguda em murinos.

3.2 Específicos:

- Calcular a dose letal (DL₅₀) do extrato aquoso obtido das folhas de *P. sagittalis* em camundongos.
- Realizar a triagem farmacológica comportamental com o extrato aquoso das folhas de *P. sagittalis* em camundongos.
- Testar os efeitos do extrato aquoso obtido das folhas de *P. sagittalis* sobre a analgésica periférica, usando o modelo de contorção abdominal com ácido acético em camundongos.
- Avaliar os efeitos do extrato aquoso obtido das folhas de *P. sagittalis* sobre a analgésica central, usando o modelo de “Tail-Flick” em camundongos.
- Observar o efeito do extrato aquoso obtido das folhas de *P. sagittalis* no modelo do tempo de sono induzido por barbitúrico em camundongos.

4. Materiais e Métodos

4.1. Material Botânico

As espécimes de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabreira (ver figura 1) foram coletadas em cultura caseira de ervas medicinais, no Bairro Japãozinho, na Região metropolitana de Aracaju, estado de Sergipe. Após a coleta, foi realizada a identificação da planta pelo Botânico Dr. Lauro Xavier Filho do Laboratório de Produtos Naturais e Biotecnologia, do Instituto de Tecnologia e Pesquisa – ITP, e confirmação pelo herbário da Universidade Federal de Sergipe com os registros nº 02829 de 17/11/1982 e nº 03048 de 01/11/1988 (anexo 1 e 2).

As plantas foram lavadas, em seguida, as folhas verdes retiradas e passadas por seleção para exclusão das danificadas por insetos, pelo contato com o solo ou por qualquer outro fator que interferisse na qualidade delas.

4.2. Obtenção do Extrato

As folhas frescas selecionadas foram pesadas e colocadas em recipiente para preparação de infusão com água deionizada fervente por 15 minutos e abafadas, na proporção de 200g de folha para 1 litro de água deionizada.

Após o resfriamento da infusão, a solução foi filtrada, acomodada em recipientes de vidro específicos para liofilização e colocada em freezer horizontal Brastemp, por 24h a temperatura de -20°C, para congelamento.

O extrato congelado foi colocado no liofilizador, permanecendo até a completa retirada da água pelo aparelho. Liofilizado, o extrato foi pesado e transferido para um

recipiente de vidro hermeticamente fechado para posterior utilização. Com os valores do extrato líquido e do extrato liofilizado pode-se calcular o rendimento da amostra pela fórmula: $R=(ES/P)*100$, onde R entende-se por rendimento, ES por extrato seco (liofilizado) e P por peso das folhas.

4.3. Animais

A manipulação dos animais foi de acordo com as normas para a prática didático-científica conforme a Lei nº 9.605/ 1998, § 1º e o Projeto de Lei nº 1.691, de 2003 (ANDERSEN *et. al.*, 2004), e conseqüente aprovação do pré-projeto pelo Comitê de Ética para Experimento Animal da Universidade Federal de Sergipe, situado na Cidade Universitária “Prof. José Aloísio Campos”, Jardim Rosa Else, no município de São Cristovão/SE (ver anexo 3).

Os camundongos do gênero *Swiss* de ambos os sexos, com peso entre 25-30 g, foram utilizados para a realização dos estudos “*in vivo*”. Tais animais cedidos pelo Biotério Central da UFS e transferidos um dia antes do início da realização dos experimentos para o Biotério do Departamento de Fisiologia com o intuito de estabelecer uma eficiente aclimatação.

Conforme os procedimentos padronizados, fez-se necessário manter os animais em jejum alimentar, por 4 a 6 horas, sustentados apenas com água. Eles foram distribuídos em nº de 05 por gaiola pequena, a fim de realizar os experimentos.

As contenções e manipulações foram realizadas apenas pela pesquisadora, sendo os animais retirados da gaiola pela base da cauda e imobilizados em superfície fixos, contidos pela pele solta na base do pescoço com o polegar e o indicador, e a cauda presa com o anelar e mínima de uma das mãos e com a outra foi aplicada a injeção no abdome (i.p.) como estendido por Almeida (2006).

A cada ensaio “*in vivo*”, os animais foram conservados com alimentação e água *ad libitum* até retornarem para o Biotério Central da UFS, a fim de serem sacrificados por deslocamento cervical, acondicionados em freezer para descarte, por um dos técnicos do Biotério, responsável por tal procedimento.

4.4. Modelo de Toxicidade Aguda (DL₅₀)

Para observação da Toxicidade Letal (DL₅₀) do extrato aquoso de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera em camundongos tipo *Swiss* (25-30g); seguiu-se a proposta de normas para estudo da Toxicidade e da Eficácia de Produtos Fitoterápicos (www.anvisa.gov.br). Assim, a substância deve ser aplicada inicialmente em animais em pelo menos 3 doses distintas, sendo que ao ultrapassar a dose de 2g/kg e não apresentar efeito tóxico, a substância pode ser considerada de baixo risco à saúde, tendo em vista que a sua utilização popular raramente ultrapassa essa concentração.

Para esse experimento foram utilizadas as doses de 1, 2 e 3 g/Kg do extrato aquoso *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em grupos de 06 machos e 06 fêmeas, para cada dose (SILVA, *et. al.*, 2006). Eles foram confinados em gaiolas em nº de 5 com ração e água *ad libitum*, e observados por leitura da mortalidade nos intervalos de 24h, 48h e no final dos 14 dias após a administração do extrato (DIETRICH, 1983 *apud* BISPO *et al.*, 2001).

Todas as alterações comportamentais e óbitos durante esse período de observação foram anotados para possibilitar o cálculo da dose letal de 50% dos animais (DL₅₀).

4.5. Triagem Farmacológica Comportamental

Foram utilizados 4 grupos com 4 animais cada, sendo administrados nos grupos 1, 2 e 3 as doses do extrato aquoso das folhas de *P. sagittalis* (Lam.) Cabreira nas concentrações de 100mg, 200mg e 400mg, respectivamente e o grupo 4 se administrou solução salina à 0,9% como controle, todos por via intra-peritoneal (i.p.). O comportamento dos animais de cada grupo foi monitorado no período de 4 horas e enquadrado em categorias que estão descritas na tabela em anexo 4.

A realização do teste de triagem farmacológica possibilita, através de observações detalhadas, a identificação de alterações comportamentais em animais frente a um agente psicofármaco como o protocolo descrito em Almeida (2006).

Na triagem farmacológica se observou como parâmetros de comparação, entre os grupos testes e controle, alterações comportamentais de efeitos estimulantes como: hiperatividade, irritabilidade, agressividade, tremores, convulsões, auto limpeza e piloereção; depressores como: hipnose, ptose palpebral, sedação, anestesia, resposta diminuída ao toque, reflexo auricular e força ao agarrar; bem como efeitos autossômicos: tipo de fezes, respiração forçada, micção excessiva, entre outros (ALMEIDA, 2006).

4.6. Teste da contorção abdominal (Ácido Acético)

O efeito nociceptivo desse teste foi avaliado pelo número de contorções observadas nos animais após a administração do ácido acético na concentração de 0,6%. Como o protocolo descrito em Freire e colaboradores (2003).

Para realização do teste da contorção abdominal foram separados 5 grupos (n = 8), classificados da seguinte forma: Grupo Controle (salina a 0,9%); Grupo Morfina (10mg/Kg); Grupo Extrato de *P. sagittalis* (100mg/Kg); Grupo Extrato de *P. sagittalis* (200mg/Kg) e Grupo Extrato de *P. sagittalis* (400mg/Kg). A administração das respectivas substâncias foi realizada com 30 minutos antes da aplicação do estímulo nociceptivo (ácido acético – CH₃COOH a 0,6%), sendo todas as administrações por via intra-peritoneal (ver figura 4).

A dose de melhor atividade foi submetida ao teste de reversão com Naloxona (5mg/Kg), utilizando como padrão de reversão a morfina, cujo mecanismo de ação é opióide. O protocolo de reversão é descrito em Viana *et. al.* (2003).



Figura 4 – Aplicação intra-peritoneal.

Fonte: www.tmigmbh.de

Após 10 minutos da aplicação do ácido, os animais foram observados por um período de 30 minutos, nos quais foi contabilizado o número de vezes que ocorria contração e rotação do abdômen do camundongo, e por vezes seguida de extensão de uma ou das duas patas traseiras, tendo como parâmetro de analgesia o grupo que recebeu administração de morfina a 10mg/Kg.

4.7. Teste de “Tail-Flick”

O princípio desse teste é avaliar a percepção da dor pelos animais através do tempo (em segundos) que os animais treinados mantiveram a cauda sobre uma fonte térmica (laser de ultravioleta) após a administração das substâncias de possível atividade analgésica.

A realização do Teste de “Tail-Flick” seguiu o protocolo descrito em Lapa e colaboradores (2003).

Para realização desse teste, os animais passaram inicialmente por treinamento, o qual foi realizado com 24h de antecedência ao teste, em sala fechada sem ruídos, na qual eles são temporariamente privados de ração, mas com água *ad libitum*. Os animais são colocados sobre a mão da pesquisadora (única a manipulá-los) para acostumar com o odor e minimizar os sinais de estresse. Posteriormente, foram colocados sobre o aparelho de “Tail-Flick”, para que no momento do teste mantivessem a cauda sobre o ponto de luz evitando viés pela agitação dos animais.

Para realização do experimento foram separados 5 grupos (n = 8), classificados da seguinte forma: Grupo Controle (salina a 0,9%); Grupo Morfina (10mg/Kg); Grupo Extrato de *P. sagittalis* (100mg/Kg), Grupo Extrato de *P. sagittalis* (200mg/Kg) e Grupo Extrato de *P. sagittalis* (400mg/Kg).

Após 30 minutos da administração das substâncias supra citada, foi aplicado estímulo térmico de intensidade superior à 40°C, no terço médio da cauda, previamente demarcado, nos intervalos de leitura 30,60 e 120 minutos após a aplicação do extrato, porém sem ultrapassar 10 segundos o tempo de exposição ao estímulo, para minimizar os possíveis danos tissulares. A metodologia utilizada foi descrita por Lapa *et. al.* (2003). Como fonte de calor utilizou-se um foco de luz convergente dirigido para um

ponto selecionado. O aparelho de medida (analgésímetro Ugo Basile, mod. Tail-Flick DS-20) foi usado com regulação de latências basais entre 4 e 6 segundos. Quando o animal movimentava a cauda, a leitura da latência em centésimo de segundo foi automaticamente registrada (ver figura 5). Como parâmetro de analgesia utilizou-se a morfina (10mg/kg).



Figura 5 – Aparelho de “Tail-Flick”, demonstrando o treino realizado com os animais antes da realização dos testes.

Fonte: www.tmigmbh.de

Esse teste permitiu a obtenção de informações sobre o mecanismo e o local da atividade antinociceptiva detectada, já que foi avaliada a retirada da cauda do camundongo, sendo um reflexo medular. A prevalência deste teste se dá pela facilidade e rapidez de execução do mesmo, da reprodutibilidade e consistência dos valores basais entre vários avaliadores, além das “variações na latência ao estímulo térmico que são sistematicamente afetadas por manipulações farmacológicas alterando a percepção dolorosa em humanos” (LAPA *et al.*, 2003).

4.8. Tempo de Sono Induzido por Barbitúrico

Almeida (2006) afirma que substâncias depressoras do SNC tendem a prolongar o sono induzido por barbitúrico. Segundo protocolo descrito em Lapa *et al.* (2003), esse modelo apresenta duas etapas distintas de observação após a aplicação do tiopental: o tempo de latência, ou seja, o tempo em que o animal perde o reflexo de endireitamento; e o tempo de duração do sono.

Para realização do experimento foram separados 5 grupos (n = 8), classificados da seguinte forma: Grupo Controle (salina a 0,9%); Grupo Diazepan (5mg/Kg); Grupo Extrato de *P. sagittalis* (100mg/Kg); Grupo Extrato de *P. sagittalis* (200mg/Kg) e Grupo Extrato de *P. sagittalis* (400mg/Kg). A administração das respectivas substâncias foi realizada com 30 minutos antes da aplicação do tiopental sódico ABBOTT (60mg/Kg), todas por via intra-peritoneal.

Após a aplicação do tiopental marcava-se o tempo inicial, sendo os animais transferidos para uma gaiola sem maravalha, acompanhando-se por um tempo e modificando-se o momento em que eles perdiam o reflexo de endireitamento entrando no estágio de sono e o momento em que eles voltavam a ter seus reflexos (ver figura 6), o que caracterizava a saída do estágio de sono. Foi estabelecido um corte com limite de 120 minutos após a aplicação do tiopental sódico, para considerar o tempo de duração de sono.



Figura 6 – Animal recobrando o reflexo de endireitamento.

Fonte: Laboratório de Neurofisiologia da UFS.

5. Análise estatística

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

6. Resultados

Após a liofilização do extrato de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera, calculou-se o rendimento com base em 400g de folhas utilizadas das quais se obteve 10,2841g do extrato liofilizado, resultando num rendimento de R igual a 2,571%.

Com relação à toxicidade aguda (DL₅₀), não foi notificada morte de nenhum dos animais durante o experimento, e quanto ao comportamento observou-se que nas primeiras 24h os animais apresentaram-se um pouco sonolentos, fato este demonstrado pela escassez de movimentos na gaiola quando comparado com os animais que não receberam o extrato de *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera e que se encontravam no ambiente do biotério, local onde permaneceram pelos 14 dias de experimentação.

Na realização da triagem farmacológica comportamental, os animais foram observados por quatro horas, após aplicação dos extratos e da salina a 0,9% (grupo controle). Os animais que receberam o extrato aquoso da *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabreira nas doses de 100, 200 e 400mg/Kg, apresentaram reações que características de atividade depressora como: diminuição da percepção da dor, deambulação diminuída, menor reflexo auricular, assim como diminuição da força ao agarrar pelos animais, quando comparados aos animais que receberam a solução salina a 0,9%.

Os resultados obtidos com esse teste demonstraram a possibilidade da ação depressora do extrato aquoso de *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera em todas as doses utilizadas.

Uma vez identificada a possível ação depressora do extrato partiu-se para testes mais específicos. No teste de contorção abdominal com ácido acético, pôde-se observar potencial analgésico do extrato aquoso de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera, pois através dos dados obtidos verificou-se a redução no número de contorções musculares

do abdômen dos camundongos tratados com as doses de 100mg/Kg ($11,0 \pm 3,69$), 200mg/Kg ($14,17 \pm 4,12$) e 400mg/Kg ($7,67 \pm 2,88$) do extrato quando comparado aos animais que receberam a salina 0,9% ($28,83 \pm 4,54$), vale ressaltar que o extrato na dose de 400mg/Kg demonstrou o melhor efeito entre as três doses, como controle da analgesia utilizou-se a morfina 10mg/Kg que demonstrou inibir completamente a resposta ao estímulo doloroso (ver figura 7).

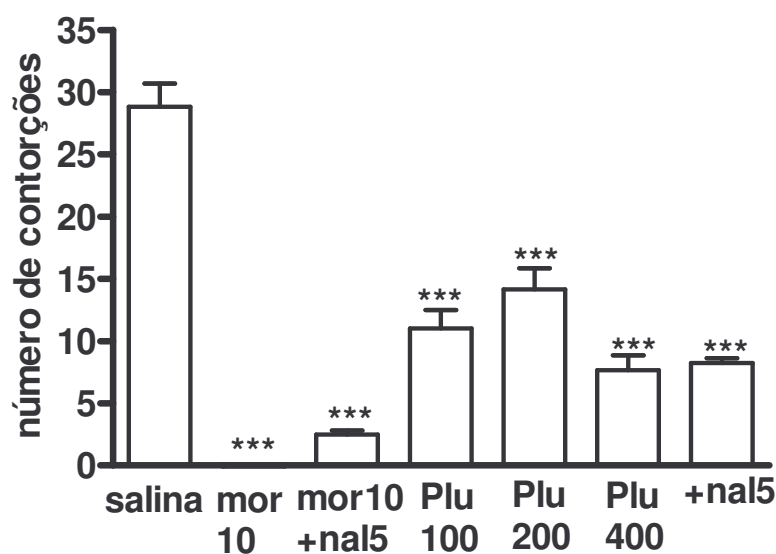


Figura 7 - Contorção abdominal em camundongos, controle negativo com solução salina 0,9%, controle positivo com morfina 10mg/Kg, extrato aquoso de *Pluchea sagittalis* 100mg/Kg, 200mg/Kg e 400mg/Kg, para testar a reversão utilizou o extrato na dose 400mg/Kg e a morfina 10mg/Kg com 5mg/Kg de Naloxona. * significa $p < 0,001$ x sol. salina, ANOVA com Tukey.**

Fonte: Laboratório de Neurofisiologia da UFS.

Em percentuais, aos dados acima demonstram uma redução da percepção da dor de aproximadamente 74% na dose de 400mg/Kg, 50% na dose de 200mg/Kg e 62% na dose de 100mg/Kg em relação com a solução salina. Há um fato, entretanto, ainda não

bem explicado pela farmacologia, que seria uma sensibilidade maior por parte dos animais na dose intermediária de 200mg.

Na tentativa de verificar se a atividade analgésica do extrato ocorreu por via opióide utilizou-se a dose de 400mg/Kg do extrato de *P. sagittalis* e a morfina (10mg/Kg) associadas à Naloxona (5mg/Kg) (ver figura 7). Pôde-se observar que a Naloxona conseguiu reverter parcialmente o efeito analgésico da morfina ($2,50 \pm 0,92$), droga de ação por via opióide, porém essa reversão não se mostrou significativa em relação ao grupo que utilizou apenas morfina 10mg/Kg. Em relação a administração do extrato com a Naloxona não se observou sinais de reversão, sendo o $P > 0,05$ na comparação dos grupo que recebeu apenas o extrato (400mg/Kg) e o que recebeu o extrato (400mg/Kg) com Naloxona (5mg/Kg), esse fato indicou que a via utilizada na analgesia produzida pelo extrato não é a opióide.

Após o bom resultado obtido no teste de contorção abdominal foi realizado o teste “Tail-Flick”, que também caracteriza o potencial analgésico da substância, porém utiliza um estímulo nociceptivo térmico em aparelho, do qual é obtido o tempo de latência da cauda do animal sobre a exposição do laser até que ele identifique um desconforto doloroso após 30, 60 e 120 minutos da administração das amostras.

Nos resultados obtidos dos animais após 30 minutos da administração das amostras, observou-se efeito antinociceptivo do extrato nas doses de 100mg ($2,60s \pm 0,37s$), 200mg ($2,59s \pm 0,35s$) e 400mg ($2,60s \pm 0,24s$) com relação à solução salina a 0,9% ($1,72s \pm 0,25s$), visto que os animais que receberam o extrato mantiveram-se por mais tempo sobre o estímulo doloroso, porém ao comparar as doses do extrato entre si, não se observa diferença significativa (figura 8).

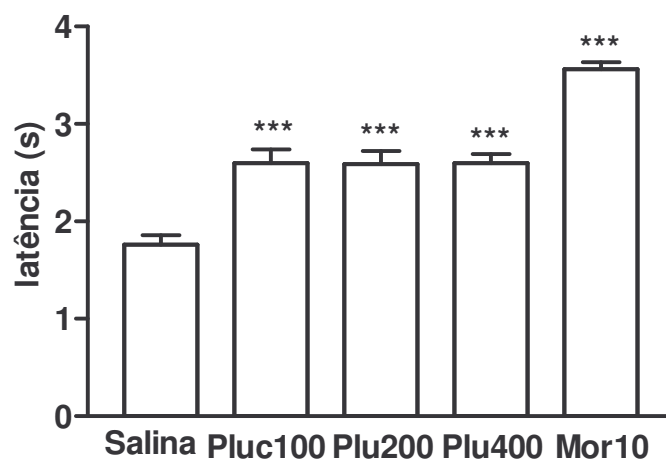


Figura 8 – Representação gráfica do tempo de retirada da cauda pelos camundongos do estímulo nociceptivo após 30 minutos, no Teste de “Tail-Flick”, após o tratamento com solução salina 0,9% controle negativo, extrato aquoso de *Pluchea sagittalis* 100mg/Kg, 200mg/Kg e 400mg/Kg e morfina a 10mg/Kg no controle positivo. *** significa $p < 0,001$ x sol. salina, ANOVA com Tukey.

Fonte: Laboratório de Neurofisiologia da UFS.

Essa distinção do efeito entre as concentrações fica mais nítida com o passar do tempo, onde o efeito analgésico após 60 minutos da administração dos extratos demonstrou variação entre as doses de 100mg/Kg ($2,79s \pm 0,34s$), 200mg/Kg ($3,11s \pm 0,46s$) e 400mg/Kg ($3,51s \pm 0,54s$) (figura 9), na qual a dose de 400mg/Kg teve ação muito próxima à da morfina 10mg/Kg ($3,80s \pm 0,41s$), utilizada no teste como controle positivo e distanciando mais da solução salina 0,9% ($1,79s \pm 0,28s$).

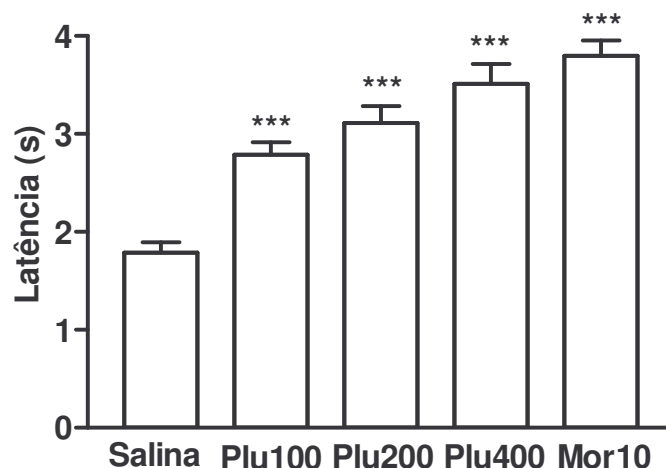


Figura 9 – Representação gráfica do tempo de retirada da cauda pelos camundongos do estímulo nociceptivo após 60 minutos, no Teste de “Tail-Flick”, após o tratamento com solução salina 0,9% controle negativo, extrato aquoso de *Plucheia sagittalis* 100mg/Kg, 200mg/Kg e 400mg/Kg e morfina a 10mg/Kg no controle positivo. *** significa $p < 0,001$ x sol. salina, ANOVA com Tukey.

Fonte: Laboratório de Neurofisiologia da UFS.

Após 120 minutos da administração das substâncias observou-se uma redução do efeito analgésico dos extratos em todas as doses 100mg/Kg ($2,29s \pm 0,26s$), 200mg/Kg ($2,41s \pm 0,48s$) e 400mg/Kg ($2,83s \pm 0,28s$), assim como da morfina 10mg/Kg ($2,94s \pm 0,19s$). Porém, quando comparados aos animais tratados com solução salina 0.9% ($1,91s \pm 0,17s$) houve valores significativos apenas nas doses mais elevadas com $p < 0,05$ na dose de 200mg/Kg e $p < 0,001$ na dose de 400mg/Kg, esse também é observado para o controle positivo com morfina a 10mg/Kg (figura 10).

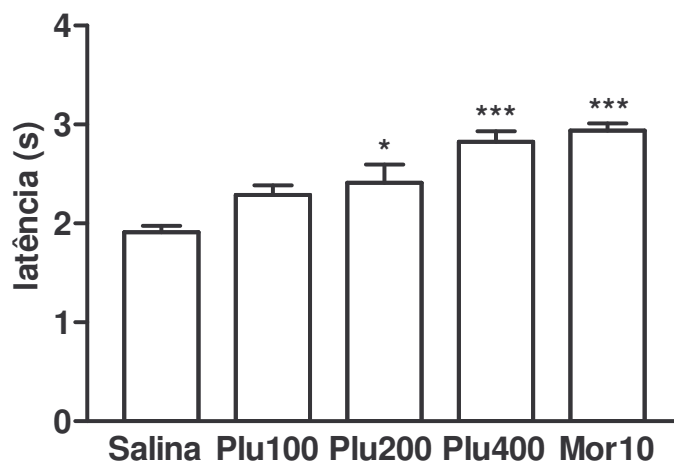


Figura 10 – Representação gráfica do tempo de retirada da cauda pelos camundongos do estímulo nociceptivo após 120 minutos, no Teste de “Tail-Flick”, após o tratamento com solução salina 0,9% controle negativo, extrato aquoso de *Pluchea sagittalis* 100mg/Kg, 200mg/Kg e 400mg/Kg e morfina a 10mg/Kg no controle positivo. * significa $p < 0,05$ e * significa $p < 0,001$ x sol. salina, ANOVA com Tukey.**

Fonte: Laboratório de Neurofisiologia da UFS.

No que se refere ao teste de “Tail-Flick”, a coleta dos dados foi realizada com cortes de 30, 60 e 120 minutos que permitiu verificar o perfil analgésico do extrato nas diferentes doses estudadas, no qual o ponto máximo de analgesia para todas as concentrações do extrato ocorreu no corte de 60 minutos (figura 9). Entretanto nos primeiros 30 minutos já é notório a redução da sensibilidade do animal quando exposto ao estímulo nociceptivo (figura 8) e nos 120 minutos finais observou-se um aumento na percepção dele mesmo (figura 10).

Após verificar o bom resultado do extrato aquoso de *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera sobre modelos de analgesia, realizou-se um teste com maior direcionamento ao sistema nervoso central, o teste de tempo de sono induzido por barbitúrico, no qual pode-se

observar a ação depressora do extrato através da potencialização do sono induzido por esta droga como pode ser visto nas figuras 11 e 12.

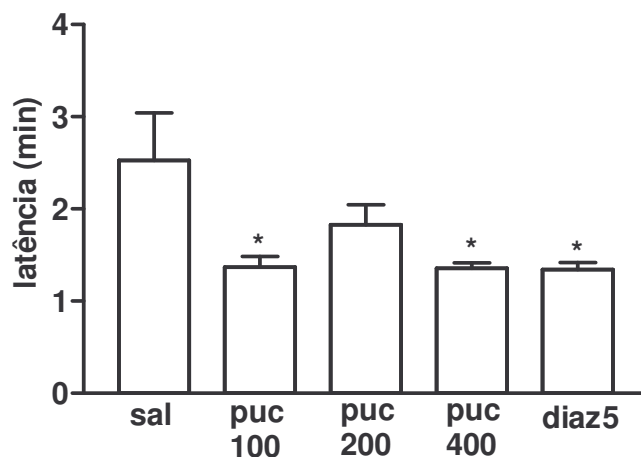


Figura 11 – Tempo de latência do sono induzido por barbitúrico, referente ao tempo de perda do reflexo de endireitamento pelos camundongos, controle negativo com solução salina 0,9%, controle positivo com morfina 6mg, extrato aquoso de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera 100mg/Kg, 200mg/Kg e 400mg/Kg. * significa $p < 0,05$ x sol. salina, ANOVA com Tukey.

Fonte: Laboratório de Neurofisiologia da UFS.

A figura 11 mostra um efeito inicial do extrato aquoso nas concentrações de 100mg/Kg ($1,23\text{min} \pm 0,20\text{min}$) e 400 mg/Kg ($1,22\text{min} \pm 0,10\text{min}$), com $p < 0,05$ em ambos, no que se refere ao tempo que os animais levam para perder o reflexo de endireitamento, sendo esse efeito também observado nos animais tratados com diazepam 5 mg/Kg ($1,21\text{min} \pm 0,13\text{min}$). Tal efeito não pôde ser observado na dose de 200mg/Kg do extrato aquoso ($1,65\text{min} \pm 0,66\text{min}$) e no tratamento com solução salina a 0,9% ($2,37\text{min} \pm 1,53\text{min}$).

A ação inibitória do extrato sobre o SNC tornou-se mais nítida quando analisados os dados do tempo de duração do sono nesses animais (figura 12).

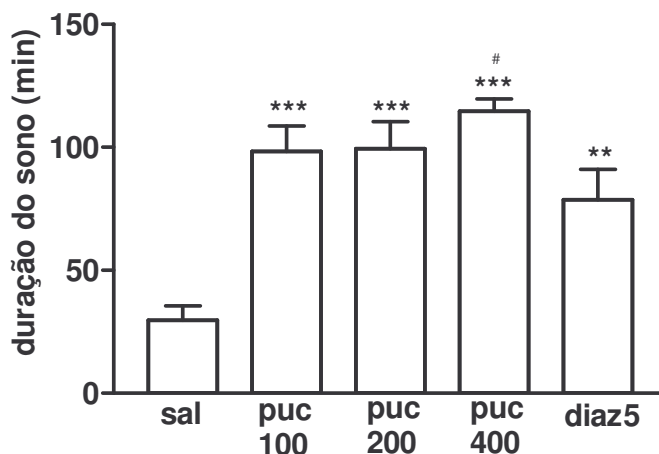


Figura 12 - Tempo de duração do sono (em minutos) induzido por barbitúrico. Controle negativo com solução salina 0,9%, controle positivo com Diazepan 5mg/Kg, extrato aquoso de *Pluchea sagittalis* 100mg/Kg, 200mg/Kg e 400mg/Kg. ** significa $p < 0,01$; * significa $p < 0,001$ x sol. Salina; # significa $p < 0,05$ x Diazepan 5mg/Kg, ANOVA com Tukey.**

Fonte: Laboratório de Neurofisiologia da UFS.

Na análise do tempo de duração do sono pôde-se observar que o significativo efeito hipnótico-sedativo dos extratos nas doses de 100mg/Kg (98,24min \pm 29,37min), 200mg/Kg (99,44min \pm 30,45min) e 400mg/Kg (114,61min \pm 14,25min) com relação a solução salina. Resultados esse que superaram a capacidade hipnótico-sedativo do Diazepan 5mg/Kg (78,65min \pm 34,99min), caso que merece ressalva, visto que essa substância é utilizada como droga de escolha para tratamento de distúrbios do sono. Com esses resultados confirma-se também a atividade do extrato como depressor do sistema nervoso central verificado previamente por outros testes.

7. Discussão

No ensaio de Toxicidade Aguda do extrato aquoso das folhas de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera demonstrou-se que as doses de 1, 2 e 3 g/Kg por via i.p., não representam baixo risco de toxicidade na forma aguda. A realização desse ensaio é necessário segundo Padilla (1999), para o reconhecimento dos possíveis efeitos tóxicos de espécies vegetais como fator importante para posterior aplicação de doses terapêuticas. Quando comparado à administração oral, as doses de 1 e 2g do extrato etanólico também não demonstraram ser tóxicas, visto que essas doses são utilizadas por Barros *et. al.* (2006) na caracterização da atividade anti-inflamatória e analgésica desse extrato.

Como menciona do por Almeida (2006), a realização da triagem farmacológica teve um papel fundamental para o melhor conhecimento do comportamento dos animais em relação ao extrato, principalmente no que diz respeito a sua possível ação no SNC. Os resultados obtidos com esse teste demonstraram que o extrato aquoso das folhas de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera as doses de 100, 200 e 400mg/Kg apresentam indícios de atividade depressora do SNC, fato esse que foi determinante na tomada de decisão dos testes a serem aplicados para confirmação desse efeito.

Através do teste de contorção abdominal observou-se a atividade analgésica do extrato aquoso, fato já demonstrado anteriormente por Barros *et. al.* (2006) ao estudar o extrato etanólico da mesma planta. O extrato etanólico apresentou uma redução do número de contorções de 49,2% na dose de 2g/Kg v.o. enquanto que o extrato aquoso utilizado nesse estudo conseguiu uma redução de 74% no número de contorções na dose 400mg/Kg v.i.p., ou seja, o extrato aquoso com a dose 5 vezes menor obteve atividade

analgésica superior a do extrato etanólico, ambos obedecendo o mesmo protocolo experimental.

A atividade analgésica e anti-inflamatória das folhas de *Pluchea quitoc* DC. têm sido atribuída por pesquisadores à presença das substâncias triterpênicas: stigmasterol, β -amirina, taraxasterol e pseudo-taraxasterol, que segundo os mesmos, foram recentemente isoladas das folhas dessa planta. Essas substâncias são descritas isoladamente com função anestésica, sendo necessárias novas investigações por técnicas de isolamento e identificação de compostos químicos na tentativa de verificar se há possibilidade da dessas substâncias estarem presentes no extrato aquoso das folhas de *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera, assim como se elas seriam as verdadeiras responsáveis pela ação analgésica desse extrato.

Dentre os diferentes mecanismos que podem estar envolvidos no processo da analgesia, os receptores envolvidos no processo inibitório da transmissão da dor são, principalmente, os opióides, canabinóides e o GABA_A, sendo a via opióide a mais utilizada no processo de analgesia relacionado ao uso de medicamentos (SAWYNOK, 2003).

Com finalidade de identificar se a via opióide estava relacionada à analgesia observada na utilização do extrato aquoso da *P. sagittalis* (ver figura 7), utilizou-se a Naloxona, como antagonista opióide, no Teste de Contorção Abdominal, na tentativa de reverter a ação analgesia provocada do extrato na sua dose de melhor efeito (400mg/Kg), porém observou-se que a associação da Naloxona com esse extrato não provocou diferença significativa em relação ao número de contorções ao confrontar o grupo que recebeu apenas o extrato, por conseqüência pode-se afirmar que via utilizada pelo extrato para reduzir a percepção da dor não é a opióide.

No que se refere ao fato observado na figura 7, em que a Naloxona provocado apenas uma reversão parcial do efeito analgésico da morfina, não representando diferença significativa em relação ao grupo morfina (10mg/Kg), Song (2005) demonstra que a Naloxona apresenta um efeito dual na analgesia, relatando que a utilização dessa substância em associação com a morfina em doses iguais é capaz de reverter a analgesia, porém em doses de 1/10 e 1/20 ela potencializa o efeito analgésico da morfina. Considerando que a dose de 5mg/Kg utilizada nesse trabalho representa $\frac{1}{2}$ da dose da morfina, pode-se relacionar o parcialidade do efeito da Naloxina à concentração da dose administrada dessa substância.

No teste de Tail-Flick, o qual utiliza como estímulo nociceptivo uma fonte de calor (laser) de intensidade superior a 40°C estimularam-se, através da cauda, especialmente os receptores nociceptivos de percepção térmica provocando a transmissão do sinal de lesão tissular correspondente à dor. Dentro desse processo os animais foram submetidos a uma fase de treino (adaptação dos animais ao aparelho) para que a retirada da cauda do foco de luz ocorresse por sensibilização evitando-se viés no trabalho.

No teste de “Tail-Flick” pôde-se observar o desempenho do extrato aquoso da *P. sagittalis* com a variação do tempo em 30, 60 e 120 minutos, nos quais a dose de 400mg/Kg demonstrou ser a mais eficiente com ação analgésica próxima à da morfina 10mg/Kg, medida pela latência da cauda. Barros *et. al.* (2006) descreve a resposta analgésica do extrato etanólico no mesmo modelo, obtendo valores de latência semelhantes às da dose de 400mg/Kg do extrato, porém utilizando a dose de 1,5g/Kg v.o.

No que se refere à analgesia pode-se afirmar que o extrato aquoso e etanólico apresentam semelhanças em ação, porém a diferença das concentrações utilizadas para

obtenção dos mesmos efeitos pode estar diretamente relacionada à via de administração de cada extrato assim como a possibilidade de haver diferença na quantidade da(s) substância(s) que provoca(m) esse efeito, tendo em vista a forma de extração (água e etano, respectivamente).

A utilização desses dois testes de analgesia permitiu a estimulação do nociceptores por via química e térmica. Como descrito anteriormente a inibição da dor pode ser dada a nível espinal por via aferente ou descendente por reações do córtex cerebral. Dentre esses mecanismos a via opióide demonstrou não ter relação como a analgesia atribuída ao extrato aquoso da *P. sagittalis* (Lam.) Cabrera, havendo então a possibilidade da interação dos receptores GABAérgicos nesse mecanismo, visto que recentemente têm-se demonstrado a relação direta desse receptor sobre analgesia, ou mesmo outros mecanismos como o serotoninérgico (SAWYNOK, 2003).

Embora haja comprovação a atividade analgésica e anti-inflamatória da *P. sagittalis* em diferentes de extrato (etanólico, clorofórmico, entre outros), não há relatos o efeito hipnótico-sedativo dessa planta. Nesse trabalho foi possível observar, através do teste de tempo de sono, que o extrato aquoso da *P. sagittalis*, além do efeito analgésico apresenta efeito hipnótico-sedativo (ver figura 11 e 12) com redução do tempo de latência do sono, que se refere ao tempo em que os animais perdem o reflexo de endireitamento, e pelo aumento do tempo total de sono que em todas as doses ultrapassou o tempo de sono dos animais que receberam o Diazepan (5mg/Kg) utilizado como controle de hipnose.

Vale ressaltar que a dose de 400mg/Kg mostrou-se mais eficiente em todos os testes, sendo no Teste de “Tail-Flick”, a única que após 120 min da administração manteve efeito tão significativo quanto à morfina utilizada como controle da analgesia.

Através da somatória de todos os dados obtidos nos testes de analgesia e hipnose pôde-se confirmar a atividade depressora do extrato de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera, identificada inicialmente do teste de triagem farmacológica comportamental. Embora haja um grande número de receptores envolvidos nos mecanismos de percepção do estímulo doloroso e na hipnose, observou-se também que a via opióide demonstrou não ter participação direta no mecanismo da analgesia por esse extrato.

Esse trabalho trouxe como benefício direto o respaldo científico à sociedade, em particular, à parcela da população que usa a *P. sagittalis* como alternativa terapêutica na forma de chá com finalidade analgésica ou mesmo calmante.

No que se refere à via de ação do extrato, uma vez excluída a via opióide, surge a necessidade de realização de novos testes com substâncias antagonistas de receptores específicos, como o receptor GABA_A, entre outros, que possam ter atividade direta na nocicepção e na hipnose, com intuito de determinar o mecanismo de ação desse extrato.

A possibilidade de o receptor GABAérgico estar envolvido nos processos de analgesia e hipnose observados nesse trabalho parte condição em que o receptor GABA_A pode ser relacionado a diferentes mecanismos a depender do local de associação da droga administrada provocando efeito sedativo-hipnótico, ansiolítico, anticonvulsivante e analgésico de drogas sobre o receptor GABA_A, embora muitos desses mecanismos ainda estejam em estudo (FOLLESA *et. al.*, 2004).

7. Conclusão

O extrato aquoso das folhas de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera não apresentou atividade tóxica aguda nas doses testadas, conclui-se assim que o mesmo representa baixo risco de intoxicação se administrado por via intra-peritoneal em doses de até 3g/Kg.

A triagem farmacológica comportamental demonstrou indícios de atividade depressora do extrato aquoso de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera, comprovada posteriormente pelos testes de contorção abdominal, “Tail-Flick” e tempo de sono induzido por barbitúrico.

A atividade analgésica do extrato aquoso das folhas de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera foi comprovado pelos testes de contorção abdominal e “Tail-Flick”, e através dos resultados obtidos com a Naloxona sugeriu-se que a via utilizada pelo extrato em relação à analgesia não é a via opióide.

E por fim, conclui-se que o extrato aquoso das folhas de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera possui efeito hipnótico pelo teste de tempo de sono induzido por barbitúrico, ressaltando a diferença estatística das doses testadas em relação ao controle de hipnose com Diazepan.

8. Referências bibliográficas

ALMEIDA, R.N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

ANDERSEN, M.L.; D'ALMEIDA, V.; KO, G.M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P.J.F.; DE MAGALHÃES, L.E.; TUFIK, S. **Princípios éticos e práticas do uso de animais de experimentação**. UNIFESP: Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, 2004.

BARROS, I.M.C., LOPES, L.D.G., BORGES, M.O.R., BORGES, A.C.R., RIBEIRO, M.N.S., FREIRE, S.M.F. **Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Pluchea quitoc* (DC.) ethanolic extract**. Journal of Ethnopharmacology, 106:317-320, 2006.

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 antidermatogenic effects of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* leaves in experimental animals**. Journal of Ethnopharmacology, 76(1):81-6, 2001.

BORGES, A.C., RIBEIRO, M.N., REGO, T.J.A.S., GUERRA, R.N.M., BORGES, M.O. da R. **Plantas Medicinais – um estudo multidisciplinar**. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/eventos/rrma/textos/MR21%20%20PLANTAS%20MEDICINAIS%20UM%20ESTUDO%20MULTIDISCIPLINAR.pdf>>. Acesso em 20/10/2006.

CARLINI, A. **Portaria nº 6, de 31 de janeiro de 1995**. Artigo disponível no site: www.ms.gov.br. Acesso: 20/12/2006.

CARLINI, A. **Portaria nº 116, de 08 de agosto de 1996**. Artigo disponível no site: www.ms.gov.br. Acesso: 20/12/2006.

CRAVO, S. **Classificação da dor**. Disponível em: <centrodeestudos.org.br/matesp.html>. Acesso em 04/12/2007.

CUNHA, A.P., SILVA, A.P., ROQUE, O.R. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**. Fundação Calouse Guilbenkian: Lisboa, 2003.

FERREIRA, M. H. A.; XAVIER-FILHO, L.; RODRIGUES, S. A.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N. & PEREIRA, F. O. **Atividade Antimicrobiana e Composição do**

Óleo Essencial de Quitoco- *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera. Resumos do XVIII Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, Manaus, AM, 2004.

FOLLESA, P., BIGGIO, F., CARIA, S., GORINI, G., BIGGIO, G. **Modulation of GABA_A receptor gene expression by allopregnanolone and ethanol.** *European Journal of Pharmacology*, 500: 413-425, 2004.

FREIRE, S.M.F., EMIN, J.A.S., LAPA, A.J., SOUCCAR, C., TORRES, L.M.B. **Analgesic and antiinflammatory properties of *Scoparia dulcis* L. Extracts and glutatinol.** *Phytotherapy Research*. 7:408-414, 1993.

GAMEIRO, G.H. **O efeito do etanol sobre a nocicepção induzida pela injeção de formalina na ATM de ratos.** Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual de Campinas, 2004.

GUYTON, A.C. **Fisiologia humana.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

Herbotecnia.com.ar. Artigo disponível no site: <www.herbotecnia.com.ar/aut-lucera.html>. Capturado em 04/11/2004.

LA CRUZ, M.G. de. **O acesso aos fitoterápicos e plantas medicinais e a inclusão social – diagnóstico situacional da cadeia produtiva farmacêutica no Estado de Mato Grosso.** Relatório da Secretaria do Estado da Saúde, Governo do Estado do Mato Grosso, 2005.

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 Mediciniais, 2003.

LARINI, L. **Toxicologia.** 3^a ed. São Paulo: Manolo, 1999.

LE BARS, D., ADAM, F. **Nociceptors and mediators in acute inflammatory pain.** *Ann. Fr. Anesth. Reanim.* 2002; 21(4):315-35.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência.** São Paulo: Atheneu, 2002.

LORENZI, H. & MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil nativas e exóticas.** Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA; São Paulo: 2002.

LOW, T.; ROOD, T.; BERESFORD, R. **Segredos e virtudes das plantas medicinais.** Reader's Digest: Rio de Janeiro, 1999.

LUND, J.P, LAVIGNE, G.J., DUBNER, R., SESSLE, B.J. **Dor orofacial: da ciência básica à conduta clínica.** Quintessence Editora Ltda; 2002.

MELLO, E.C.C.; XAVIER-FILHO, L. **Plantas medicinais de uso popular no estado de Sergipe.** UNIT, 2000.

MONKS, R. N.; FERRAZ, A.; BORDIGNON, S.; MACHADO, K. R.; LIMA, M. F. S.; ROCHA, A. B. da & SCHWARTSMANN, G. **In vitro cytotoxicity of extracts from brazilian Asteraceae.** *Pharmaceutical Biology*, 40(7):494-500, 2002.

OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia.** São Paulo: Atheneu, 1996. p. 28-70.

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.** *Revista Cubana de Plantas Médicas*, 1999. 3(2):87-90.

PERECIN, M.B.; BOVI, O.A.; MAIA, N.B. **Pesquisa com plantas aromáticas, medicina e corantes: o papel do Instituto Agrônomo.** *O agrônomo*, 54(2):21-4, 2002.

PEREZ-GARCIA, F; MARIN, E.; ADZET, T. & CANIGUERAL, S. **Activity of plant extracts on the respiratory burst and stress protein synthesis.** *Phytomedicine*, 8(1):21-8, 2001.

PEREZ-GARCIA, F; MARIN, E.; CANIGUERAL, S. & ADZET, T. **Anti-inflammatory action of *Pluchea sagittalis*: involvement of an antioxidant mechanism.** *Life Science*, 59(24):2033-40, 1996.

PINTO, M. S.C. **A percepção da Dor: Receptores Envolvidos.** *R.F.M.L.*, 2000. 5(5): 253-62p.

QUEIROZ, M.L.S.; JUSTO, G.Z.; VALADARES, M.C.; PEREIRA-DA-SILVA, F.R.R.; MULLER, A.H. **Adjuvant effect of *Pluchea quitoc.* extract on the resistance of tumorbearing mice by modulation of the host hematopoietic response.** *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2004. 23:215-228

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia.** 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 685p.

RAVEN, P. H. **Biologia Vegetal**, 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906 p.

RESENDE, Q.G.M. **Avaliação farmacológica da *Alpinia speciosa* Schum no Sistema Nervos Central em camundondos.** Monografia apresentada ao curso de graduação em Farmácia da Universidade Tiradentes, 2004.

SAWYNOK, J. **Topical and peripherally acting analgesics.** Pharmacological Reviews, 2003. 55:1-20.

SCHAILE, H. G.; RICHTER, F. **Phathophysioogy of pain.** Langenb. Arch. Surg., 2004. 389: 237-43.

SCHATZBERG, A.F.; COLE, J.O.; DE BATTISTA, C. **Manual de psicofarmacologia clínica.** 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 148 – 158.

SENT, T., NAG CHAUDHURI, A.K. **Antiinflammatory evaluation of a *Pluchea indica* Less. root extract.** Journal Ethnopharmacology, 1991. 33(1-2):135-41.

SESSLE, B.J. **Recent developments in pain research: central mecanisms of orofacial pain and its control.** Journal Endodontia, 1986. 12(10):435-44.

SESSLE, B.J. **Mechanism of trigeminal and occipital pain.** Pain Review, 1999. 3:91-116.

SILVA, A.B.L.; DIAS, K.S.; MARQUES, M.S.; MENEZES, I.A.C.; SANTOS, T.C.; MELLO, I.C.M.; LISBOA, A.C.C.D.; CAVALCANTE, S.C.H.; MARÇAL, R.M.; ANTONIOLLI, A.R. **Avaliação do efeito antinociceptivo e da toxicidade aguda do extrato aquoso de *Hyptis fruticosa* Salmz. Ex. Benth.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 2006. 16(4):475-479.

SOUZA, G.C. de; HAAS, A. P. S.; VON-POSER, G. L.; SCHAPOVAL, E. E. S. & ELISABETSKY, E. **Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil.** Journal of Ethnopharmacology, 90:135-43, 2004.

SONG, S. **The dual effects of naloxone on morphine analgesia: Dose-related defferent responses on formalin-induced nociception.** The Journal of Pain, 2005. 6(3):1-21

SLULLITEL,A.; SOUSA, A.M. **Analgesia, sedação e bloqueio neuromuscular em UTI.** Medicina, Ribeirão Preto, 1998. 31:507-16.

THONGPRADITCHOTE, S., MATSUMOTO, K., TEMSIRIRIRKKUL, R., TOHDA, M., MURAKAMI, Y. WATANABE, H. **Neuropharmacological actions of *Pluchea indica* Less. Root extract in socially isolated mice.** Biological Pharmacology Bulletin, 1999. 19(3):379-83.

VAZ, Z.R.; MATA, L.V.; CALIXTO, J.B. **Analgesic effect of the herbal medicine Catuama in thermal end chemical models of nociception in mice.** Phytoterapy Research, 1997. 11:101-6.

VENÂNCIO, A.M. **Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do óleo essencial do *Ocimum brasiliicum* L. (manjeriço), em *Mus musculus* (camundongos).** Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Federal de Sergipe, 2006.

VIANA, A.F.; HECKLER, A.P.; FENNER, R.; RATES, S.M.K. **Antinociceptive activity of *Hypericum caprifoliatum* and *Hypericum polyanthemum* (Guttiferae).** Brazilian Journal and Medical Research, 2003. 36:631-4.

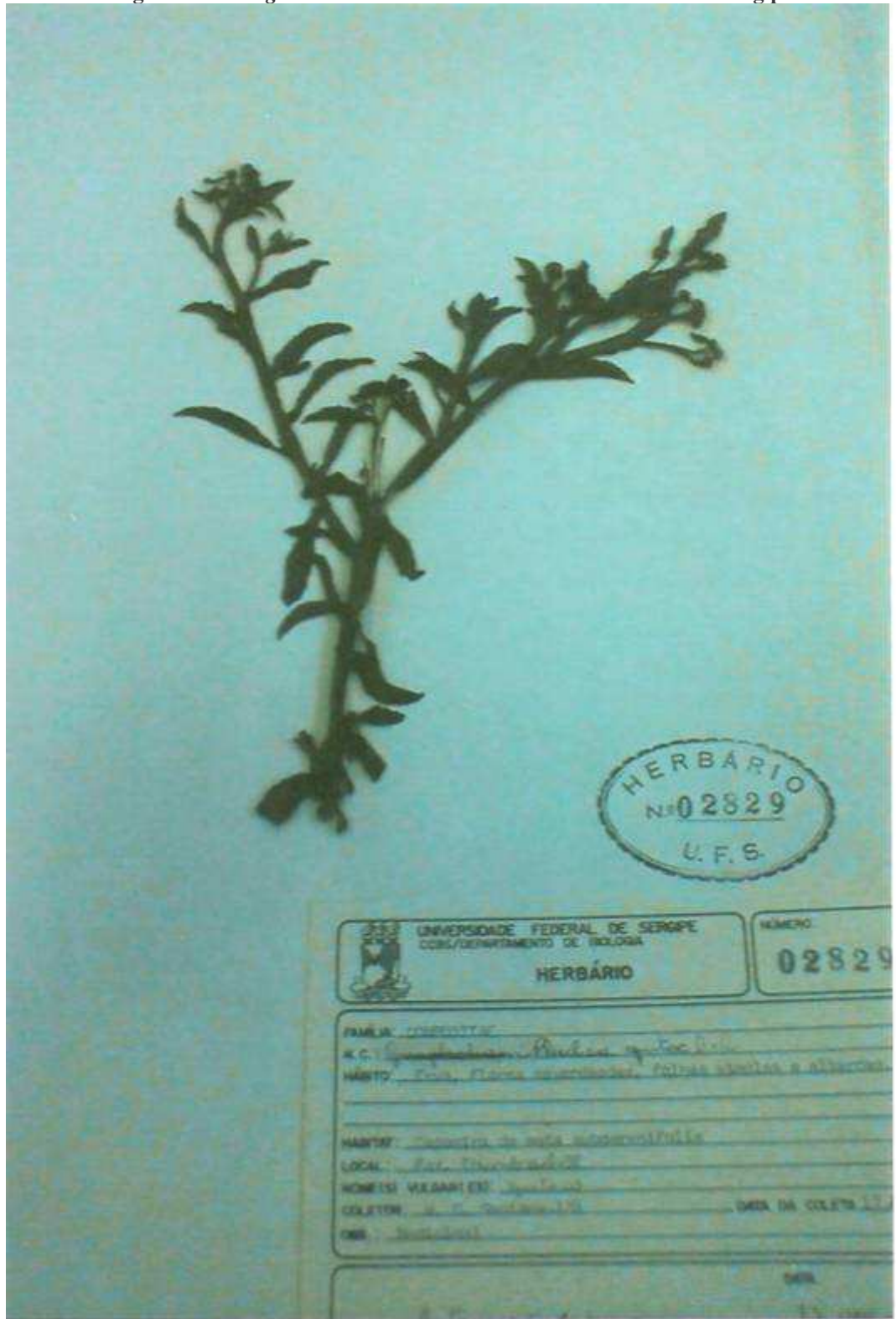
VIEIRA, E.S. **A evolução da fitoterapia em 500 anos de Brasil.** Monografia apresentada ao curso de graduação em Farmácia da Universidade Tiradentes, 2001.

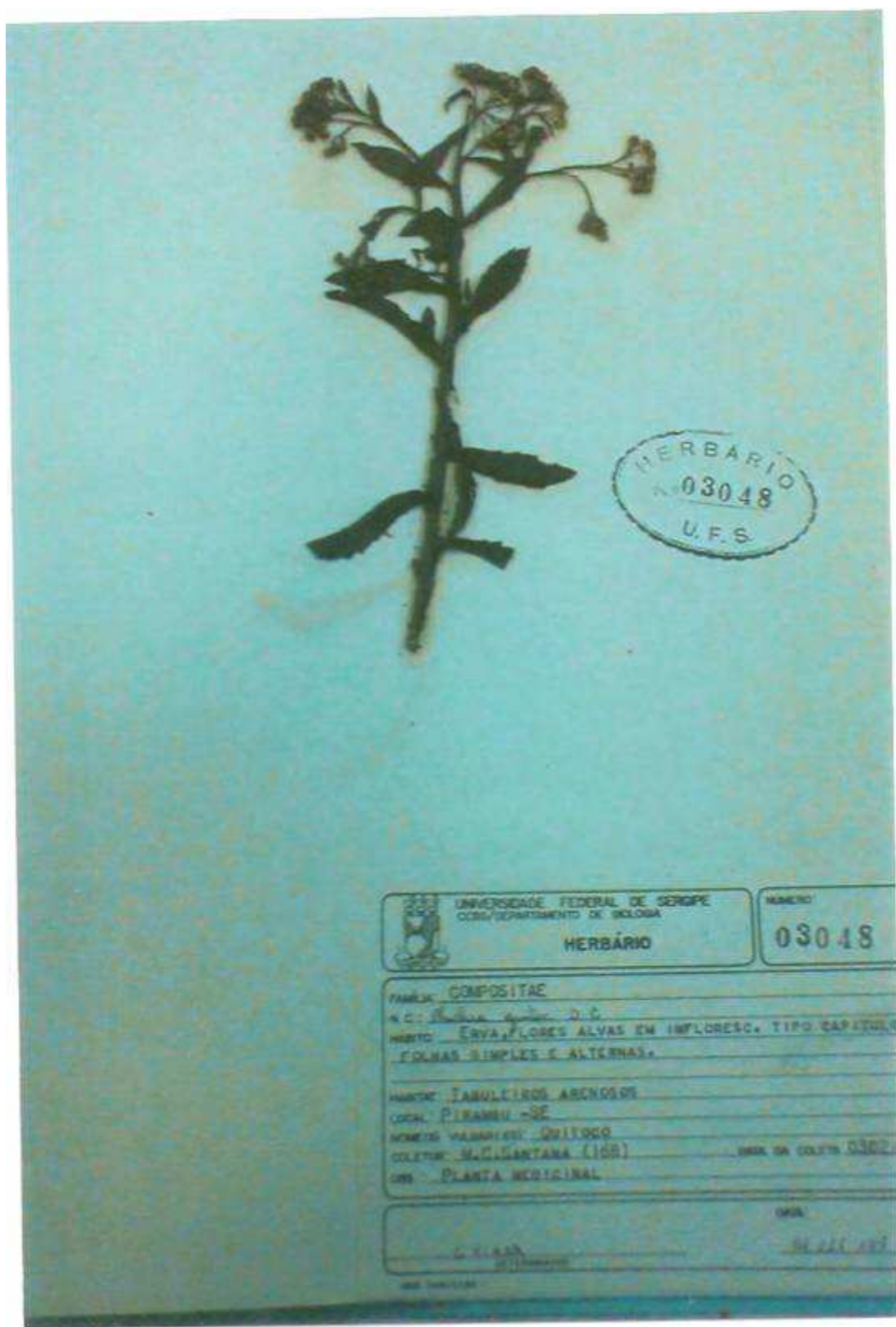
VILLASEÑOR, J.L., VILLARREAL, J.A. **El genero *Pluchea* (Família Asteraceae, tribu Plucheeae) en México.** Revista Mexicana de Biodiversidade, 2006. 77:59-65.

WOOLF, C. **Dissercting out mechanisms responsible for peripheral neuropathic pain: implications of diagnosis and therapy.** Life Science, 2004. 74:2605-10.

WEISS. R. F. **Trattato di fitoterapia.** 1ª ed. Roma: Aporie, 1991. p. 21-3.

9. Anexos

Anexo 1 – Registro da *P. sagittalis* no herbário da Universidade Federal de Sergipe em 1982.

Anexo 2 – Registro da *P. sagittalis* no herbário da Universidade Federal de Sergipe em 1988.

Anexo 3 – Liberação do Comitê de ética em Pesquisa Animal – CEPA/UFS.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa intitulado "Efeitos sobre o sistema nervoso central do extrato aquoso obtidos das folhas de *Pluchea saggitalis* (Lam.) Cabrera (quitoco)", sob coordenação do Prof. Dr. Murilo Marchioro, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Sergipe, em reunião realizada dia 24/07/2006.

São Cristóvão, 26 de julho de 2006

Prof.^a Dr.^a Flavia Teixeira Silva
Presidente do CEPA/UFS

Cidade Universitária "Prof. Aloísio de Campos"
Jardim Rosa Elze – São Cristóvão – SE
49100-000
Fones: 3212 6661/6606

Anexo 4 – Tabela de Tiagem Farmacológica

TRIAGEM FARMACOLÓGICA COMPORTAMENTAL

Nome da planta : _____ Dose: _____ Parte usada: _____
 Veículo: _____ Data: ___/___/___ Via de administração: _____
 Espécie animal: _____ Sexo: ___ Responsável técnico: _____
 Grupos: _____

Atividade farmacológica	Instantes de observações				
	0,5h	1h	2h	3h	4h
1-SNC					
a)Estimulante					
Hiperatividade					
Irritabilidade					
Agressividade					
Tremores					
Convulsões					
Piloereção					
Mov. Int. vibrissas					
b)Depressora					
Hipnose					
Ptose palpebral					
Sedação					
Anestesia					
Ataxia					
Refle. Endireita.					
Catonia					
Analgesia					
Res.Toque dimin.					
Refl. Corne dim					
Refl. Auri.dimi.					
c)outros					
Ambulação					
Bocejo excessivo					
Auto limpeza					
Levantar					
Escalar					
Vocalizar					
Sacudir a cabeça					
Contorção abdom					
Abdução posterior					
Pedalar					
Estereotipia					
2-SNA					
Tipo de fezes					
Respiração forçada					
Lacrimejamento					
Micção					
Salivação					
Cianose					
Tono muscular					
Força para agarrar					

Quantificação dos efeitos: (0): sem efeito; (-): efeito diminuído; (+): efeito presente; (++) : efeito intenso.

Anexo 5 - Resumo dos Trabalhos Apresentados em Eventos:

Efeitos do Extrato Aquoso das folhas de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera, sobre o Sistema Nervoso Central em Modelo Murino - Rodrigues^{1,2}, S. A., Machioro¹, M. Xavier-Filho², L.¹ Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe - UFS; ² Laboratório de Produtos Naturais e Biotecnologia – ITP/Universidade Tiradentes

Pluchea sagittalis (Lam.) Cabrera, Compositae (Asteraceae), conhecida vulgarmente como quitoco é uma planta originária do continente americano e freqüente no Brasil, onde é cultivado em hortas caseiras como ornamental ou medicinal. Registros etnofarmacológicos indicam o uso desta planta como carminativa estomacal, distúrbios de digestão, flatulências, histerismo, dispepsias nervosas, inflamação no útero, rins e bexiga, reumatismo e dores do corpo. As folhas, flores e o caule são utilizados na forma de chás e banhos. Existem comprovações científicas do seu efeito cicatrizante, anti-inflamatório, antioxidante, diarréico e anti-estresse, verificados em camundongos. O objetivo deste trabalho foi verificar os possíveis efeitos do extrato aquoso das folhas de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabreira, sobre o Sistema Nervoso Central. O extrato foi preparado com folhas frescas de *P. sagittalis* em infusão com água fervente durante 15 minutos, tampada, após o total resfriamento, a solução foi filtrada e liofilizada. Foram utilizados camundongos *Swiss*, machos, pesando entre 20-30g, acomodados em gaiolas e manipulados segundo as normas do Comitê de Ética Animal (COBEA/UFS), distribuídos em grupos com 6 animais, com administração das substâncias via intraperitoneal. Realizou-se o teste de triagem farmacológica dos extratos nas doses de 100, 200 e 400mg/Kg e comparando com salina do grupo controle, no qual foram avaliados alguns parâmetros comportamentais: efeito estimulante – hiperatividade, convulsão e piloereção; efeito depressor – hipnose, sedação, analgesia e reflexos diminuídos; efeitos no sistema nervoso autônomo – fezes, respiração forçada, lacrimejamento, salivação e cianose. Teste de contorção abdominal, administrou-se o extrato nas doses de 100, 200 e 400mg/kg, controle com solução salina (0,9%) e controle com morfina 10mg/Kg, 30 minutos antes da administração do estímulo nociceptivo (ácido acético 0,6%) e foi contabilizado o número de contorções e estiramentos dos animais num período de 20 minutos. Teste de tempo de sono induzido com barbitúrico, foram administradas as doses de 100, 200 e 400mg/kg, controle com solução salina (0,9%) e controle com Diazepan 5mg/Kg, 30 minutos antes da administração do barbitúrico 60mg/Kg e foi observado o tempo em que o animal perdia o reflexo de endireitamento e o tempo final de sono. Observou-se na triagem que o extrato possuía um efeito depressor do sistema nervoso central pelos sinais de analgesia, hipnose e reação ao estímulo reduzida, no teste de contorção abdominal observou-se diferença significativa entre os grupos com os valores de $p < 0,01$ na dose de 200mg/Kg e $p < 0,001$ nas de 100 e 400mg/Kg, no teste de tempo de sono também houve diferença significativa entre os grupos com $p < 0,05$ para as três doses, sendo o tempo total de sono maior no grupo com a dose de 400mg/Kg em relação ao Diazepan 5mg/kg. Assim os testes de contorção abdominal e tempo de sono vêm confirmar o efeito depressor desta planta sobre o sistema nervoso identificado inicialmente pela triagem farmacológica e a utilização popular.

Palavras-chave: *Pluchea sagittalis*, depressor, antinociceptivo.

Apresentação: XIX Congresso Brasileiro de Plantas Mediciniais, Hotel Othon, Salvador-Ba, outubro de 2006.

Anexo 6 - Resumo dos Trabalhos Apresentados em Eventos:

Atividade Antimicrobiana de Diferentes Extratos da Raiz de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera. Célia Luíza de Lima Rodrigues (Curso de Biomedicina – UNIT e LPNB/ITP/UNIT, cllrodrigues@hotmail.com), Sheyla Alves Rodrigues (LPNB/ITP/UNIT, shelrodrigues@hotmail.com), Murilo Marchioro (Departamento Fisiologia, UFS, march@ufs.br), Lauro Xavier-Filho (LPNB/ITP/UNIT, xavierfilho@infonet.com.br).

A *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera é uma planta da família Asteraceae, conhecida vulgarmente por quitoco. Sendo uma espécie originária no continente americano, é facilmente encontrada no Brasil nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, nas quais é utilizada como planta medicinal e ornamental. A esta planta atribui-se os efeitos anti-inflamatório, anti-ulcerativo, protetor da mucosa gástrica, antioxidante e inibidor do estresse, sendo esses estudos realizados como extrato ou óleo essencial da folha não havendo referências sobre a utilização da raiz. O objetivo do trabalho foi identificar os possíveis compostos presentes na raiz de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera por diferentes extrações assim como sua atividade antimicrobiana “*in vitro*”. Foram utilizadas raízes secas para preparação dos extratos etanólico, hexanólico e clorofórmico. As raízes eram trituradas colocadas em soxleht com os respectivos solventes, etanol, hexano e clorofórmio, por 4 horas. O solvente de cada extrato era retirado em rotaevaporador e ressuspenso no momento de uso. Uma alíquota de cada extrato foi injetada em cromatógrafo de gasoso com massa (CG-MS) e identificados os possíveis compostos de cada extrato. Na atividade antimicrobiana “*in vitro*” foram utilizadas placas de Petri com cultura dos microrganismos *Escherichia coli* (CCT-0355), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC-6533), *Salmonella typhi* (CCT-1511), *Shigella sonnei* (CCT-1484) e *Candida albicans* (ATCC-76645) pela técnica de Pour Plate, nas quais eram feitos poços para aplicação de 50µL de cada extrato. As placas eram incubadas a 37°C por 48h, em seguida eram medidos os halos formados ao redor de cada extrato. Na atividade antimicrobiana houve inibição de *Staphylococcus aureus* nos extratos etanólico, hexanólico e clorofórmico com os halos de 14, 12 e 12mm, respectivamente, e inibição da *Candida albicans* nos extratos etanólico e clorofórmico com halos de 12mm. Embora, no CG/MS, tenha sido identificado apenas um composto por extrato, os extratos etanólico, hexanólico e clorofórmico, apresentando timol, óxido de cariofileno e alfa-felandreno, respectivamente, com referentes atividades antimicrobianas, antidermatofíticas e inseticida, os mesmos apresentaram poder de inibição da atividade microbiana. (PROBIC/UNIT)

Palavras-chave: *Pluchea sagittalis*, antimicrobiano, composição química.

Apresentação: VII Semana de Pesquisa da Universidade Tiradentes (SEMPESq), Universidade Tiradentes, Aracaju – SE, outubro de 2006.