



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E FARMACOLOGIA
CURSO DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**



MARIA DOS REMÉDIOS MENDES DE BRITO

Avaliação dos efeitos de *Mikania glomerata* sobre o Sistema Nervoso Central

TERESINA

2012

MARIA DOS REMÉDIOS MENDES DE BRITO

Avaliação dos efeitos de *Mikania glomerata* sobre o Sistema Nervoso Central

Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso apresentada ao curso de Farmácia da Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof^o Dr. Rivelilson Mendes de Freitas

Co-orientadora: Prof^a Ma. Lorena Citó Lopes Resende Santana

TERESINA

2012

MARIA DOS REMÉDIOS MENDES DE BRITO

Avaliação dos efeitos de *Mikania glomerata* sobre o Sistema Nervoso Central

Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso apresentada ao curso de Farmácia da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Data de Aprovação: 04/05/2012

Banca Examinadora:

Profº Dr. Rivelilson Mendes de Freitas – NTF/UFPI
(Orientador)

Profª Ma. Dayane Alves Costa
(Faculdade Aliança)

Profª Ma. Jéssica Pereira Costa
(Universidade Estadual do Piauí – Campos de Parnaíba)

Profº Me. Thiago Henrique Costa Marques
(Instituto Federal do Piauí - IFPI)

**TERESINA
2012**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

REITOR

Profº. Dr. Luiz de Sousa Santos Júnior

VICE-REITOR

Profº. Dr. Edwar de Alencar Castelo Branco

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE GRADUAÇÃO

Profª. Dra. Guiomar de Oliveira Passos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Profº. Dr. Antônio dos Santos Rocha Filho

VICE-REITOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Profº. Dr. José Guilherme Ferre Pompeu

COORDENADOR DO CURSO DE FARMÁCIA

Profª. Dra. Maria das Graças Freire de Medeiros

VICE-COORDENADOR DO CURSO DE FARMÁCIA

Profª. Dra. Eilika Andréia Feitosa Vasconcelos

A meus pais,
pelo incentivo e carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS pelo dom da vida. O grande autor dessa conquista. Foram muitos momentos de correria, cansaço, mas ao meu lado DEUS colocou pessoas especiais que me ofereceram seus ombros para que neles pudesse me reerguer.

Aos meus pais FRANCISCA MENDES e EUCLIDES NETO, exemplos de determinação, de dedicação e de amor. Por estarem sempre ao meu lado sem medir esforços.

Aos meus irmãos ISAAC BRUNO e RAFAEL por estarem comigo nessa longa jornada do conhecimento sendo meus amigos, companheiros e conselheiros.

Ao meu namorado PAULO ADRIANO pela sua imensurável ajuda. Pelo carinho e amor a mim dedicados.

As minhas tias MARIA DE LOURDES, MARIA DO SOCORRO E MARIA DOS REMÉDIOS, por me acolherem como uma filha.

Aos FARMAPIRATAS, obrigado pelos momentos de alegria, pelas brigas, pelos grupos de estudos, muito obrigado por todos esses dias de convivência. Em especial aos meus amigos HANDERSON, PAÔLLA e PAULA, pelo companheirismo ao longo desses quatro anos, dividindo seus conhecimentos sem nada pedir em troca.

Ao professor Dr. RIVELILSON MENDES DE FREITAS. Ao longo de um ano e meio meus olhos e ouvidos mantiveram atentos aos seus ensinamentos. E quando, inúmeras vezes, busquei exaurir minhas dúvidas, ele teve paciência para ouvir e explicar, e quando faltou a paciência, sobreveio a vontade de me fazer entender. Mas quando até a vontade falhou, restou à dedicação e o amor.

A família LAPNEX, pela contribuição de cada membro na minha formação acadêmica e pessoal. Em especial a LORENA CITÓ, pela orientação e ensinamentos.

Agradeço a todos, que de alguma forma contribuíram para esse trabalho.

“Não, a ciência não é uma ilusão. Ilusão seria imaginar que aquilo que a ciência não nos pode ensinar, podemos conseguir em outro lugar”

Sigmund Freud (1856-1939)

SUMÁRIO

1 LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	X
2 LISTA DE ILUSTRAÇÕES	XII
3 LISTA DE TABELAS	XII
4 RESUMO	XIV
5 ABSTRACT	XVI
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 OBJETIVOS.....	24
2.1 Objetivo Geral.....	24
2.2 Objetivos Específicos.....	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
3.1 Material vegetal.....	25
3.2 Preparação do extrato etanólico das folhas de <i>M. glomerata</i>	25
3.3 Animais.....	26
3.4 Estudo das propriedades físico-químicas.....	27
3.4.1 Determinação da densidade bruta e de compactação.....	27
3.4.2 Determinação do teor de cinzas totais.....	27
3.4.3 Determinação do teor de umidade.....	28
3.4.4 Determinação da granulometria.....	29
3.5 Estudos toxicológicos em camundongos tratados com o extrato etanólico padronizado das folhas de <i>M. glomerata</i>	29
3.5.1 Determinação da dose letal média (DL ₅₀) e da toxicidade aguda do extrato etanólico das folhas de <i>M. glomerata</i>	29
3.5.2 Avaliação da toxicidade subcrônica.....	30
3.5.3 Análise dos parâmetros bioquímicos.....	31
3.5.4 Análise dos parâmetros hematológicos.....	31
3.5.5 Análise morfológica macroscópica.....	31

3.6 Avaliação da atividade locomotora de camundongos tratados com o extrato etanólico padronizado das folhas de <i>Mikania glomerata</i>	32
3.6.1 Teste do campo aberto.....	32
3.6.2 Teste do rota Rod.....	32
3.7 Avaliação da atividade ansiolítica em camundongos tratados com o extrato etanólico padronizado das folhas de <i>Mikania glomerata</i>	33
3.7.1 Teste do labirinto em cruz elevado.....	33
3.7.2 Teste do claro/escuro.....	34
3.8 Avaliação do possível efeito na temperatura retal de camundongos tratados com o extrato etanólico padronizado das folhas de <i>Mikania glomerata</i>	35
3.10Análise estatística.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5 CONCLUSÃO.....	47
6 PERSPECTIVAS.....	48
REFERÊNCIAS.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AST- Aspartato Aminotransferase

ALT- Alanina Aminotransferase

ALP- Fosfatase Alcalina

ALE- Atividade Locomotora Espontânea

BZD- Benzodiazepínicos

ANOVA- Análise de Variância

CHCM- Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

CT- Colesterol Total

DL₅₀- Dose que mata 50% da população de uma amostra

dc- Densidade de Compactação

db- Densidade Bruta

DZP- Diazepan

EPMG- Extrato Padronizado de *Mikania glomerata*

EPMG200- Extrato Padronizado de *Mikania glomerata* na dose de 200 mg/kg

EPMG300- Extrato Padronizado de *Mikania glomerata* na dose de 300 mg/kg

EPMG400- Extrato Padronizado de *Mikania glomerata* na dose de 400 mg/kg

E.P.M- Erro Padrão da Média

HCM- Hemoglobina Corpuscular Média

i.p.- Via Intraperitoneal

IC- Índice de Compressibilidade

NEBA- Número de Entradas nos Braços Abertos

NUFITO- Núcleo de Fitoterapia

NUASF- Núcleo de Assistência Farmacêutica

SESA- Secretaria de Saúde do Estado do Ceará

SNC- Sistema Nervoso Central

TLCE- Teste do Labirinto em Cruz Elevado

TCE- Teste do Claro Escuro

TCA- Teste do Campo Aberto

TRR- Teste do Rota Rod

TAG- Transtorno de Ansiedade Generalizada

TPBA- Tempo de Permanência nos Braços Abertos

TPBC- Tempo de Permanência no Box Claro

TP- Tempo de Permanência na Barra

T(°C)- Temperatura em Graus Celsius

VCM- Volume Corpuscular Médio

WHO- World Health Organization

UmL⁻¹- Unidade por mililitro

UL⁻¹- Unidade Internacional por Litro

X²- Teste do Qui Quadrado

CG- Classe granulométrica

F% - Fração retida

Fxm- Fração retida x abertura média

m- abertura média da malha

Δm- intervalo de abertura da malha

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Ilustração 1: Estruturas dos constituintes químicos das folhas de *M. Glomerata* obtido a partir do estudo fitoquímico. 20
- Ilustração 2: Folhas de *M. Glomerata*. 25
- Ilustração 3: Camundongos Swiss machos adultos..26
- Ilustração 4: Densímetro de sólidos..27
- Ilustração 5: Mufla...28
- Ilustração 6: Estufa.....28
- Ilustração 7: Granuloteste..29
- Ilustração 8: Aparelho utilizado no teste do Campo Aberto..32
- Ilustração 9: Aparelho utilizado no teste do Rota Rod..33
- Ilustração 10: Aparelho utilizado no teste do Labirinto em Cruz Elevada.33
- Ilustração 11: Aparelho utilizado no teste do Claro/Escuro...34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Avaliação da Granulometria do pó obtido a partir das folhas de <i>M. glomerata</i>	36
Tabela 2: Toxicidade aguda após tratamento com doses repetidas do extrato etanólico de <i>M. glomerata</i> em camundongos.....	37
Tabela 3: Análise morfológica macroscópica de camundongos <i>Swiss</i> , tratados com extrato etanólico de <i>M. glomerata</i> por via oral durante 30 dias.....	38
Tabela 4: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de <i>Mikania glomerata</i> em parâmetros hematológicos de camundongos.....	39
Tabela 5: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de <i>Mikania glomerata</i> em parâmetros bioquímicos de camundongos.....	40
Tabela 6: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de <i>Mikania glomerata</i> no teste do campo aberto.....	42
Tabela 7: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de <i>Mikania glomerata</i> no teste do labirinto em cruz elevada (<i>plus maze</i>).....	44
Tabela 8: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de <i>Mikania glomerata</i> no teste do claro/escuro.....	45
Tabela 9: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de <i>Mikania glomerata</i> no teste do <i>rota Rod</i>	45
Tabela 10: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de <i>Mikania glomerata</i> sobre a verificação da temperatura retal.....	46

RESUMO

BRITO, M.R.M. **Avaliação dos efeitos de *Mikania glomerata* sobre o Sistema Nervoso Central**. Orientador: Rivelilson Mendes de Freitas, Trabalho de Conclusão de Curso, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 55p., 2012.

A *Mikania glomerata*, pertencente à família Asteraceae, é bastante utilizada na medicina popular devido às suas ações broncodilatadora, antiasmática, expectorante e antitussígena. O objetivo do presente estudo foi determinar as propriedades físico-químicas do pó do extrato padronizado obtido a partir das folhas de *M. glomerata*, bem como avaliar a toxicidade em camundongos após tratamento agudo com doses repetidas do extrato etanólico padronizado preparado a partir das folhas dessa espécie. Durante o estudo das propriedades físico-químicas do pó obtido a partir das folhas de *M. glomerata* foi realizada a determinação da densidade bruta e de compactação, teor de cinzas totais, teor de umidade e granulometria. De acordo com os resultados obtidos podemos sugerir que o pó pode ser usado na formulação de uma forma farmacêutica sólida. Na segunda parte do estudo foi determinada a Dose Letal 50% (DL₅₀), bem como foi realizada a análise morfológica macroscópica e a toxicidade aguda com doses repetidas em parâmetros bioquímicos e hematológicos de camundongos. De acordo com a segunda fase do estudo o extrato etanólico apresentou um valor para a DL₅₀ (~3000 mg Kg⁻¹) que pode ser classificado na categoria nociva, não produziu nenhuma alteração morfológica nos principais órgãos e em parâmetros bioquímicos e hematológicos de camundongos. Apesar da comprovação de várias atividades farmacológicas para esta espécie, seus efeitos sobre o sistema nervoso central ainda não foram identificados. Dessa forma, o presente estudo avaliou as propriedades ansiolíticas do extrato etanólico padronizado de *M. glomerata* em camundongos adultos machos utilizando os testes do labirinto em cruz elevado (TLCE) e claro-escuro (TCE), bem como os efeitos sobre a atividade e coordenação motora utilizando os testes do campo aberto (TCA) e *rota rod* (TRR). Em nossos estudos foi verificado um aumento no tempo e número de entradas nos braços abertos no TLCE, bem como uma maior permanência no campo claro no TCE, sugerindo um possível efeito ansiolítico. Além disso, foi vista uma redução no número de cruzamentos, *groomings* e *rearings* no TCA, e um maior

número de quedas e uma menor permanência na barra giratória no TRR, sugerindo um possível efeito sedativo e relaxante muscular. No entanto, estes resultados precisam ser melhor investigados para esclarecer o seu possível mecanismo de ação. Nesse trabalho, são descritos os resultados alcançados com o objetivo de subsidiar a preparação a partir da planta *M. glomerata* em um produto fitoterápico de qualidade, com segurança e eficácia comprovada para o uso seguro no tratamento da ansiedade.

Palavras-chave: Ansiedade, Camundongos, *Mikania glomerata*, Toxicidade Aguda.

ABSTRACT

BRITO, M.R.M. **Effects of *Mikania glomerata* on the Central Nervous System.** Leader: Rivelilson Mendes de Freitas, Completion of Course Work, Department of biochemistry and pharmacology, Federal University of Piauí, Teresina, 55p., 2012.

The *Mikania glomerata* classified is a plant belonging to the Asteraceae family that is widely used in folk medicine due to the actions bronchodilator, asthma, expectorant and antitussive. The purpose of this study was to determine the physicochemical properties of the powder obtained from and standardized extract obtained the leaves of *M. glomerata*, and to evaluate the toxicity in mice after acute treatment with repeated doses of a standardized ethanol extract prepared from the leaves of this species. During the study of physicochemical properties of the powder obtained from the leaves of *M. glomerata* was made to determine the bulk density and compaction, the total ash content, moisture content and particle size. According to the results obtained we suggest that the powder can be used in formulating a solid dosage form. In the second part of the study was determined 50% lethal dose (LD₅₀), and gross morphological analysis was performed and evaluated the acute toxicity with repeated doses on biochemical and hematological parameters of mice. According to the second phase of the study we can suggest that the ethanolic extract can be used safely in humans, since it presented a value for the LD₅₀ (~ 3000 mg kg⁻¹) that can be classified as no harmful, and not produce any morphological changes in major organs and biochemical and hematological parameters of mice. Despite the evidence of several pharmacological activities for this species, its effects on the central nervous system have not yet been identified. Thus, this study assessed the anxiolytic properties of the standardized ethanolic extract of *M. gloremata* adult male mice in the tests using the elevated plus maze and light-dark, as well as the effects on activity and motor coordination using the open-field and *rota rod* tests. In our studies there was an increase in time and number of entries in open arms in elevated plus maze test as well as better retention in bright field in light-dark test, suggesting a possible anxiolytic effect. Moreover, it was seen a reduction in the number of crossings, *rearings* and *groomings* in open-field test, and a greater number of falls and stay in a lower spinning rod in *rota rod* test, suggesting a possible sedative and muscle relaxant. However, these results need further investigation to promptly clarify

its mechanism of action. In this report, we describe the results achieved with the goal of providing subsidies to transform the plant *M. glomerata* in an herbal product quality, safe and proven safe for use in the treatment of anxiety.

Key words: Anxiety, Acute toxicity, Mice, *Mikania glomerata*.

1. INTRODUÇÃO

Embora os produtos sintéticos desempenhem papel importante na terapêutica moderna, a síntese de algumas substâncias de origem vegetal ainda não foi conseguida, fazendo com que continuem sendo obtidas de vegetais. O preço elevado da síntese de uma gama de substância dificulta o acesso de grande parte da população a esses medicamentos, gerando problemas de saúde pública.

Dessa forma, o uso das substâncias medicamentosas naturais tem aumentado, tanto em países em desenvolvimento quanto em países desenvolvidos, levando a trocas interculturais e a difusão do uso de técnicas e produtos terapêuticos naturais. Este fenômeno requer particular atenção para evitar o uso inapropriado das plantas medicinais, que podem ser prejudiciais a população (WHO, 2004).

O aumento da utilização de medicamentos contendo exclusivamente princípios ativos de origem natural ou associados a componentes químicos de outra natureza estimula várias empresas privadas e organizações governamentais a instituir projetos de pesquisa para a busca de novas substâncias ativas de origem vegetal (FERREIRA, 2002).

Diante do exposto, surgiu o interesse pelo estudo da *Mikania glomerata*, pertencente à família Asteraceae de videira que apresenta folhas opostas, ovais, simples e acuminadas e flores brancas (TESKE; TRENTINI, 1997). Asteraceae é uma das maiores famílias das Angiospermas, com aproximadamente 1535 gêneros e 23.000 espécies (BREMER, 1994). O gênero *Mikania* Willd. é conhecido popularmente como guaco, caracteriza-se por plantas herbáceas, anuais ou perenes, subarborescentes e escandentes (PIO CORRÊA, 1984). Possuindo aroma agradável semelhante à baunilha.

M. glomerata é uma planta conhecida popularmente por vários nomes dentre eles guaco trepador, guaco-de-cheiro, guaco liso, erva de cobra, cipó catinga e coração de Jesus (CELEGHINI; VILEGAS; LANÇAS, 2001). Sendo o termo guaco o mais utilizado na região nordeste do Brasil.

A planta é originária da América do Sul, ocorrendo espontaneamente no Brasil e também no Uruguai, na Argentina e no Paraguai (CELEGHINI; VILEGAS; LANÇAS, 2001). No Brasil, ocorre de norte a sul, tendo sua principal área de dispersão nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (OLIVEIRA, 1972; RITTER; MIOTTO, 2005).

M. glomerata é amplamente utilizada na medicina tradicional por apresentar ação broncodilatadora, antiasmática, expectorante, antitussígena e para o tratamento de problemas respiratórios (PANIZZA, 1997).

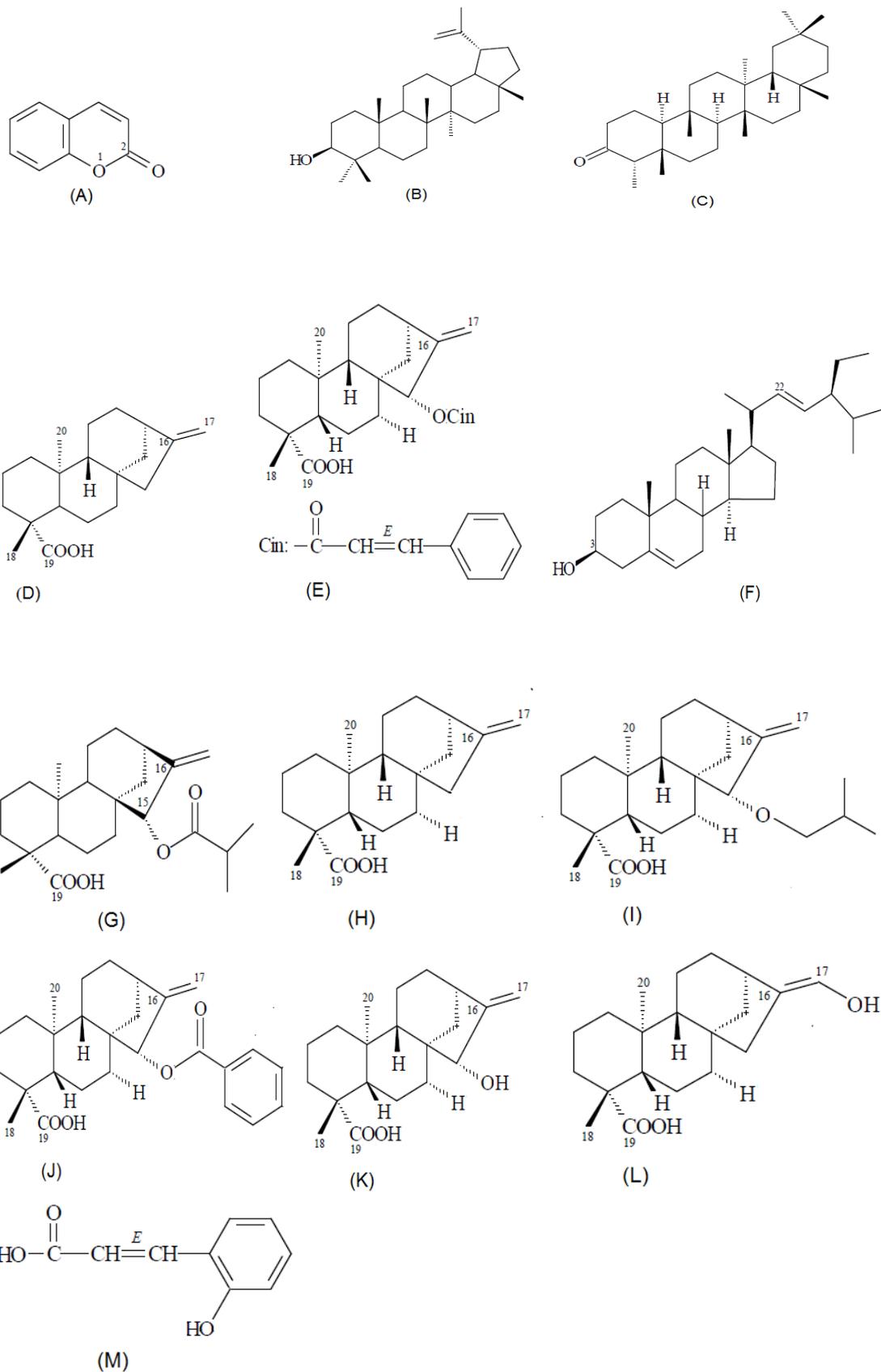
Em 1870, foi criado um produto preparado com hastes e folhas da planta, Opodeldo de Guaco, que durante décadas foi considerado um "santo remédio" contra bronquite, tosse e reumatismo (MEDICINA e SAÚDE, 1969).

O estudo fitoquímico desta espécie demonstrou a presença em sua composição química de cumarina (**A**), lupeol (**B**), friedelina (**C**) (TALEB-CONTINI et al., 2006), ácido caurenóico (**D**), ácido cinamoilgrandiflorico (**E**) estigmast- 22-en-3-ol (**F**) (OLIVEIRA et al., 1984), ácido 15- α -isobutiriloxicaur-16-en-19-óico (**G**) (VENEZIANE; OLIVEIRA, 1999), *ent*-caur-16(17)-em-19-óico (**H**), *ent*-15- β -isobutiloxicaur-16(17)-em-19-óico (**I**), *ent*-15- β -benzoioxicaur-16(17)-em-19-óico (**J**), *ent*-15- β -hidroxicaur-16(17)-em-19-óico (**K**), *ent*-17-hidroxicaur-15(16)-em-19-óico (**L**), *o*-hidroxicinâmico (**M**) (TALEB-CONTINI et al., 2006) **(Ilustração 1)**.

Vários estudos demonstraram que o guaco apresenta atividades como antimicrobiana (OLIVEIRA et al., 2007), hipolipemiante (GASPARETTO et al., 2010), diurética (RIBEIRO et al., 1986; WRIGHT et al., 2007), antipirético (OLIVEIRA et al., 2007) e analgésico no tratamento de artrite (SÁ, 2003). Entretanto, há poucos estudos relacionados à ação ansiolítica que, em plantas está estreitamente relacionada aos constituintes flavonoides (PROVENSÍ, 2007), taninos, cumarinas, saponinas e terpenos (SILVA et al., 2010). Trabalhos com diferentes espécies vegetais têm relatado que os monoterpenos, principais constituintes dos óleos essenciais, possuem uma ampla gama de atividade biológicas, sendo uma delas a atividade ansiolítica (PASSOS et al., 2009).

Os grandes transtornos de afeto e ansiedade representam as doenças psiquiátricas mais comuns e são encontradas com maior frequência pelos médicos do atendimento básico. Os fármacos podem ser úteis nesses distúrbios, particularmente pela modificação da ansiedade e depressão associadas, facilitando um programa mais abrangente de tratamento e reabilitação (BRUNTON et. al, 2010).

Ilustração 1: Estruturas dos constituintes químicos das folhas de *M. Glomerata* obtido a partir do estudo fitoquímico.



A ansiedade consiste em um estado de tensão ou apreensão cujas causas não são necessariamente produtoras de medo, mas sim da expectativa de alguma

coisa (nem sempre ruim) que acontecerá num futuro próximo. São reações normais até o momento em que começam a provocar sofrimento no indivíduo e pode causar vários sintomas como insônia, tremores incontrolláveis, tonturas e irritabilidade. Há vários tipos de ansiedade, sendo os mais comuns: distúrbios do pânico, transtorno do estresse pós-traumático e as fobias (LENT, 2004; GARAKANI; MATHEUS; CHARNEY, 2006).

O distúrbio do pânico ainda é pouco diagnosticado. Estudos internacionais (STOPPE; CORDAS, 2001) mostram uma taxa de prevalência de 0,5 a 2% ao longo da vida. É uma síndrome na qual o indivíduo apresenta ataques abruptos, recorrentes e inexplicáveis, de rápida duração (10-15 minutos). Os sintomas são: palpitações, tremores, suor frio, angústia e medo da morte.

O transtorno do estresse pós-traumático é um distúrbio potencialmente debilitante causado por experiência traumática ou de testemunho, na qual a vida do indivíduo ou de outra pessoa esteja profundamente ameaçada, e experiências intensas de medo e horror. Tipicamente, os pacientes revivem o evento traumático após contato ou lembranças com algum fator envolvido com o evento e experimentam uma intensa reatividade (ex. hipervigilância, irritabilidade e insônia).

Fobia, mais comum das alterações psiquiátricas, foi previamente classificada como fobia social, atualmente conhecida por desordem da ansiedade social, consiste no medo da auto-reação em resposta à reprovação da sociedade ou familiares frente a alguma situação, ou seja, é o medo de demonstrar os sintomas da ansiedade quando exposto a pessoas ou ambiente não-familiares. O indivíduo evita a interação social e os momentos em que deve expressar opinião ou força (VENÂNCIO et al., 2008).

Um agente ansiolítico deve reduzir a ansiedade com pouco ou nenhum efeito sobre as funções motoras ou mentais, por isso, muitas companhias farmacêuticas estão conduzindo estudos para encontrar uma alternativa médica com efeitos ansiolíticos mais específicos.

Em termos biológicos, a ansiedade induz a uma forma particular de inibição comportamental, que ocorre em resposta aos eventos ambientais que são novos, não-recompensadores (em condições em que a recompensa é esperada) ou à punição. Em animais, essa inibição comportamental pode ser observada pela redução da mobilidade ou supressão de uma resposta comportamental, tal como pressionar uma alavanca para obter comida.

Vários fármacos, provenientes de diversas classes terapêuticas, apresentam comprovada eficácia no manejo do transtorno de ansiedade generalizada. Entretanto, todas essas substâncias apresentam inconvenientes, o que justifica a busca por novas substâncias ansiolíticas. Para ilustrar essa situação, os benzodiazepínicos (como diazepam e clonazepam) provocam sedação, amnésia, podem causar abuso e/ou dependência, síndrome de abstinência e interações com agentes depressores do SNC (SHADER; GREENBLATT, 1993; SCHWEIZER; RICKELS, 1998; ARGYROPOULOS; SANDFORD; NUTT, 2000; ANDREATINI; BOERGEN-LACERDA; ZORZETTO, 2001).

O tratamento farmacológico de primeira linha dos transtornos de ansiedade consistia nos benzodiazepínicos, exemplificados por drogas como o diazepam. As doses que atendem a estas indicações variam de 2 mg a 10 mg por dia, apresentando uma meia-vida de eliminação bifásica, sendo a inicial de 7 a 10 horas e a segunda 2 a 6 dias, existindo, portanto, potência de acúmulo. No entanto, apesar da eficácia clínica, a maioria dos fármacos desta classe apresenta efeitos colaterais (MITTE, 2005), como sedação, relaxamento muscular, amnésia anterógrada e dependência física (RABBANI; SAJJADI; MOHAMMADI, 2008).

Neste contexto, tem-se assistido a um grande avanço no tratamento farmacológico dos transtornos da ansiedade. Particularmente em relação ao transtorno de ansiedade generalizada (TAG), até recentemente, a única alternativa eram os benzodiazepínicos (BZD). Entretanto, desde a introdução da buspirona, única azapirona (azaspirona, azaperona ou azaspirodecanodiona) disponível no Brasil, as alternativas de medicamentos eficazes no TAG foram ampliados. Entretanto, vários transtornos de ansiedade são resistentes ao tratamento com BZD, e esse fato, além de mostrar a relevância da pesquisa de novos agentes gera uma grande preocupação devido a indução de dependência ao diazepam.

A buspirona é a primeira de uma classe de drogas ansiolíticas, as azapironas, sendo o único fármaco dessa classe comercializado no Brasil. Duas hipóteses têm sido propostas como mecanismo de ação, ambas decorrentes de sua ação como agonista parcial dos receptores 5-HT_{1A}: atuação nos receptores pré-sinápticos somatodendríticos (auto-receptores), diminuindo a frequência de disparos do neurônio serotoninérgico présináptico; e atuação como agonista parcial nos receptores pós-sinápticos, competindo com a serotonina por estes receptores e, conseqüentemente, reduzindo sua ação (GRAEFF, 1999).

Estudos de comparação de eficácia têm mostrado que a resposta terapêutica à buspirona é comparável a do alprazolam, lorazepam, oxazepam e clorazepato. Aparentemente, a buspirona não acarreta riscos de abuso, dependência ou abstinência, não interage com o álcool ou outras drogas hipnóticas e não apresenta sedação ou prejuízo psicomotor. Mais ainda, estudo de metanálise sugere que a buspirona seria eficaz em pacientes com TAG com sintomas depressivos. No entanto, tem como desvantagem um início de ação mais demorado, precisando de cerca de duas semanas de administração para que surjam os primeiros efeitos benéficos. Aparentemente, a buspirona é menos eficaz que os BZD no tratamento dos sintomas somáticos e autonômicos do TAG, sendo mais indicada quando predominam os sintomas psíquicos, como preocupações, tensão e irritabilidade. Apesar desse perfil favorável, o uso clínico da buspirona não conseguiu superar os BZD, havendo uma série de questionamentos sobre sua eficácia ou potência ansiolítica. Mais ainda, parece haver uma menor resposta à buspirona em pacientes com uso prévio de BZD (ANDREATINI; BOERNGEN-LACERDA; ZORZETTO, 2001).

As plantas medicinais são frequentemente apresentadas como um grande potencial para a origem de novos fármacos. É inegável sua fonte como de novas substâncias bioativas como, por exemplo, diversas substâncias ansiolíticas, antidepressivas e anticonvulsivantes, utilizada no tratamento da ansiedade, depressão e epilepsia (SILVA et al., 2006; HAN et al., 2009; MARQUES; MELO; FREITAS, 2012).

No presente trabalho “Avaliação dos efeitos de *Mikania glomerata* sobre o SNC”, surge como uma alternativa para o tratamento da ansiedade, para tanto foram realizados estudos que subsidiam o desenvolvimento de uma nova formulação farmacêutica.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos do extrato padronizado de *Mikania glomerata* (Guaco) enfocando os efeitos sobre o SNC.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar as propriedades físico-químicas para a determinação da densidade bruta e de compactação, o teor de umidade, a granulometria, e a determinação de cinzas totais que subsidiem o desenvolvimento de uma formulação farmacêutica sólida a partir deste extrato padronizado.
- Determinar a toxicidade em camundongos adultos, tratados com o extrato padronizado de forma aguda em doses repetidas, utilizando modelos farmacológicos de avaliação de atividade sobre o SNC e parâmetros hematológicos e bioquímicos.
- Verificar as alterações comportamentais dos camundongos tratados com o extrato padronizado de forma aguda em doses repetidas, utilizando modelos farmacológicos de avaliação de atividade ansiolítica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

A parte aérea de *M. glomerata* Spreng. foi coletada no Horto de Plantas Medicinais do Núcleo de Fitoterapia (NUFITO), que faz parte do Núcleo de Assistência Farmacêutica (NUASF) da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (SESA). A exsicata (número 27.041) foi depositada no Herbário Graziella Barroso da Universidade Federal do Piauí.

A retirada foi feita manualmente, sendo, então, lavada em água corrente, seguida de água destilada. Após a pesquisa de materiais estranhos, a matéria-prima vegetal foi seca à sombra. **(Ilustração 2)**

Ilustração 2: Folhas de *M. Glomerata*



Fonte: Arquivo Pessoal

3.2 Preparação do extrato etanólico das folhas de *M. glomerata*

O extrato foi preparado por percolação, com pulverização prévia por 24 h do material vegetal, utilizando solução hidro-alcoólica a 70%, utilizando-se a proporção de 15 mL de extrato para cada 1 g de droga vegetal. A solução extrativa foi então concentrada em estufa com circulação forçada de ar para eliminar o teor alcoólico e aumentar o teor de sólidos, o que correspondeu a uma redução de 75% do volume inicial. Após filtração a vácuo, o filtrado foi concentrado com rota evaporador e liofilizado.

3.3 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss adultos machos e fêmeas com 2 meses de idade, com peso variando de 25-30 g, provenientes do Biotério Central do CCA (Centro de Ciências Agrárias) da UFPI. Durante todos os experimentos, os animais foram aclimatados a 26 ± 2 °C e mantidos em gaiolas de acrílico de 30 x 30 cm² com no máximo 06 animais. Os animais receberam água e ração (Purina®) *ad libitum* e foram mantidos sob condições controladas de iluminação (ciclo 12h claro/escuro). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Federal do Piauí (número do protocolo: 0071/10).

O resíduo liofilizado do extrato etanólico padronizado de *M. glomerata* foi diluído em água destilada, obtendo-se a concentração final de 10, 20 e 40 mg/mL para a realização do tratamento dos animais. Os animais foram tratados de forma aguda por via oral por um período de 30 dias consecutivos com 0,25 mL de solução salina 0,9% (grupo controle) e com extrato etanólico padronizado de *M. glomerata* nas doses de 200, 300 e 400 mg/kg correspondendo aos grupos EPMG 200, EPMG 300 e EPMG 400, respectivamente. Os grupos controle positivo foram tratados com diazepam na dose 2 mg/kg por via intraperitoneal (i.p.). Após o tratamento, os animais dos grupos tratados com EPMG, e os controles negativo e positivo foram submetidos aos estudos comportamentais conforme os protocolos previamente estabelecidos.

Ilustração 3: Camundongos Swiss machos adultos.



Fonte: Arquivo pessoal

3.4 Estudo das propriedades físico-químicas do pó obtido a partir das folhas de *M. glomerata*

3.4.1 Determinação da densidade bruta e de compactação

Esses ensaios seguiram as metodologias propostas por Guo e colaboradores (1985) e Cardoso (2002). A amostra foi colocada em provetas previamente pesadas. A densidade de compactação foi determinada com auxílio de volúmetro de compactação (**Ilustração 4**). O pó foi submetido a 1250 quedas, segundo a norma DIN 53194. Após essas determinações calculou-se o fator de Hausner determinado através do quociente entre as densidades compactada (dc) e bruta (db) (Aulton, 2005). O índice de compressibilidade (IC) foi determinado segundo equação $(dc-db)/dc$ (WANCZINSKI et al., 2002).

Ilustração 4: Densímetro de sólidos.



Fonte: Arquivo pessoal

3.4.2 Determinação do teor de cinzas totais

A amostra foi reduzida a pó semi-fino, pesada e transferida para cadinho previamente calcinado, resfriado e pesado. Foi levado à ignição a temperatura de $675 \pm 25^\circ\text{C}$ (THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2007) em mufla até que todo material fosse eliminado. A amostra foi resfriada em dessecador e pesado (**Ilustração 5**). Foi calculado a porcentagem de cinzas em relação à droga seca ao ar.

Ilustração 5: Mufla



Fonte: Arquivo pessoal

3.4.3 Determinação do teor de umidade

A amostra foi reduzida a pó fino. Foi pesado exatamente 1 g da amostra e transferida para pesa-filtro chato, previamente dessecado durante 30 minutos nas mesmas condições a serem empregadas na determinação. Foi pesado o pesa-filtro, tampado, contendo a amostra. Agitou-se o pesa-filtro brandamente para distribuir a amostra de maneira mais uniforme possível, a uma profundidade ideal de 05 mm. Colocou-se o pesa-filtro na estufa, retirou-se a tampa, deixando a amostra também na estufa (**Ilustração 6**). A amostra foi secada a uma temperatura de 105°C e por um prazo de 2 horas. Esfriou-se a temperatura ambiente em dessecador. Pesou-se. A operação foi repetida até peso constante (THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2007).

Ilustração 6: Estufa



Fonte: Arquivo pessoal

3.4.4 Determinação da granulometria

A determinação da granulometria (tamanho das partículas do pó e distribuição de tamanho) foi realizada seguindo a metodologia prevista na farmacopéia brasileira 4. ed. (1988). O procedimento foi desenvolvido mecanicamente, usando um agitador que possui movimentos horizontais e verticais e empregando-se tamises padronizados superpostos, partindo-se de maior diâmetro ao menor. Uma porção de 30 g foi colocada no tamis de maior malha e submetida à tamisação durante 30 minutos.

Ilustração 7: Granuloteste.



Fonte: Arquivo pessoal

3.5 Estudos toxicológicos em camundongos tratados com o extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata*

3.5.1 Determinação da dose letal (DL_{50}) e da toxicidade aguda do extrato etanólico das folhas de *M. glomerata*

Setenta camundongos, sendo 35 machos e 35 fêmeas foram divididos em 7 grupos de 10 animais cada. Os animais foram tratados por via oral durante 30 dias com doses de 200, 300, 400, 500, 1000, 2000 e 3000 mg Kg^{-1} do extrato etanólico padronizado das folhas de *M. glomerata*. Durante o período de tratamento foram realizadas observações comportamentais sistemáticas para avaliar o *screening* hipocrático, que fornece uma estimativa geral da toxicidade da substância sobre o estado de consciência e disposição geral, atividade e coordenação do sistema

motor, reflexos e atividades sobre os sistemas nervoso central e autônomo (MALONE; ROBICHAUD, 1962). Os parâmetros (atividade geral, frênto vocal, irritabilidade, resposta ao toque, contorção, reflexo de endireitamento, tônus muscular, força para agarrar, ataxia, reflexo auricular, reflexo corneal, tremores, convulsões, calda em *straub*, hipnose, anestesia, lacrimação, ptose palpebral, micção, defecação, piloereção, hipotermia, respiração, cianose, hiperemia, morte) foram avaliados durante o período de 30 dias, sendo avaliados a cada dois dias e, a partir de então, diariamente, até o último dia de administração do extrato. Sinais de toxicidade, a época do seu aparecimento, a intensidade, a duração e a progressão dos mesmos foram anotados para posterior análise.

Os animais sobreviventes foram eutanasiados com pentobarbital sódico 40 mg Kg⁻¹, conforme protocolo da *Cornell University/Cornell Center for Animal Resources and Education*, conforme descrito por Flecknell (1996) e Kohn (1997). Foram observados e registrados, diariamente, dados fisiológicos (peso corpóreo, consumo de água, consumo de ração, produção de excretas) e alterações comportamentais anormais durante todo o estudo (CUNHA, 2009).

O número de mortes de cada grupo foi expresso como o número total de animais que receberam o produto por grupo. A determinação da dose letal 50% (DL₅₀) foi feita através da interpolação semi-logarítmica, sendo postos no eixo das ordenadas os valores dos probitos correspondentes ao percentual de mortes e, no eixo das abcissas, as doses administradas de produto.

3.5.2 Avaliação da toxicidade aguda com doses repetidas

Neste estudo foram utilizados camundongos albinos, machos e fêmeas, divididos em 4 grupos de 10 animais e separados em gaiolas de acordo com o sexo. Os grupos receberam por via oral (cânula oro-gástrica) o EPMG, nas doses de 200, 300 e 400 mgkg⁻¹ durante 30 dias consecutivos (grupos de tratamentos subcrônicos) (VIJAYALAKSHMI; MUTHULAKSHMI; SACHDANANDAM, 2000). O grupo controle recebeu água destilada correspondente a 0,1 mL/100 g de peso vivo. Os grupos tratados receberam a dose de 1/10 da DL₅₀ de EPMG. Durante os 30 dias de experimentos os animais foram monitorados quanto a eventuais alterações comportamentais ou de natureza tóxica. Em intervalos de 02 dias os animais foram

pesados e, diariamente, tanto água quanto ração, medidos e pesados, respectivamente.

Após 30 dias de tratamento consecutivos, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (10 - 15 mg/100g de peso, i.p.) e a coleta do sangue foi realizada rompimento do plexo retro-orbital com auxílio de um capilar de vidro. O sangue foi acondicionado em dois tipos de tubo: um com anticoagulante HB (Laborlab[®]) para determinação dos parâmetros hematológicos, e o outro, sem anticoagulante, para obtenção do soro para avaliação dos parâmetros bioquímicos.

3.5.3 Análise dos parâmetros bioquímicos

Para análise bioquímica, o material foi centrifugado a 3500 rpm durante 10 minutos e, em seguida, determinados os parâmetros glicose, uréia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (AST), colesterol total, triglicerídeos, fosfatase alcalina (ALP), bilirrubinas total e direta, proteínas totais e ácido úrico. Os ensaios foram realizados em aparelho automático Labmax 240 (Labtest) com sistemas comerciais da Labtest[®].

3.5.4 Análise dos parâmetros hematológicos

Os valores para eritrócitos, leucócitos, plaquetas, hemoglobina, hematócrito e os índices hematimétricos volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram determinados imediatamente após a coleta através do analisador automático de células hematológicas Advia 120/Hematology Siemens. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em extensões coradas com May-Grünwald-Giemsa. Em cada ensaio, 100 células foram analisadas e contadas.

3.5.5 Análise morfológica macroscópica

Após a eutanásia, a avaliação macroscópica foi realizada à vista desarmada dos órgãos, além da pesagem de fígado, pulmão, coração, rim, cérebro e baço para determinar os pesos relativos e verificar se houve ou não alteração morfológica macroscópica nos principais órgãos avaliados.

3.6 Avaliação da atividade locomotora de camundongos tratados com o extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata*

3.6.1 Teste do campo aberto

Para este experimento os camundongos foram divididos em cinco grupos e tratados conforme os protocolos experimentais e com diazepam (2 mgkg^{-1} , i.p., controle positivo; $n=12$). A atividade motora dos animais foi verificada por meio de um campo aberto feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, $30 \times 30 \times 15 \text{ cm}$) e dividido em 09 quadrantes iguais, baseado no modelo descrito por Archer (1973) (**Ilustração 8**). Após 30 minutos da última dose referente aos 30 dias dos tratamentos, os animais, um por vez, foram colocados no centro do campo aberto onde o número de cruzamentos com as quatro patas (atividade locomotora espontânea; ALE), número de comportamento de autolimpeza (*grooming*) e o número de levantamentos das patas dianteiras (*rearing*), sem encostar-se à parede, foram observados durante o tempo de 5 minutos.

Ilustração 8: Aparelho utilizado no teste do Campo Aberto



Fonte: Arquivo Pessoal

3.6.2 Teste do Rota Rod

O teste do rota rod mede o efeito do relaxamento muscular ou incoordenação motora produzidos por drogas nos animais (CARLINI, BURGOS, 1979). Para este teste, os camundongos foram divididos em cinco grupos (12 animais/grupo) e tratados conforme os protocolos experimentais e colocados, um por vez, com as quatro patas sobre uma barra de 2,5 cm de diâmetro, elevada a 25 cm do piso, em uma rotação de 16 rpm, por um período de 3 minutos (**Ilustração 9**). Foram

registrados o tempo de permanência na barra giratória, em segundos (s), e o número de quedas, com três reconduções, no máximo.

Ilustração 9: Aparelho utilizado no teste do Rota Rod



Fonte: Arquivo pessoal

3.7 Avaliação da atividade ansiolítica em camundongos tratados com o extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata*

3.7.1 Teste do labirinto em cruz elevado

O objetivo deste teste é verificar o possível efeito ansiolítico ou ansiogênico de substâncias, uma vez que drogas ansiolíticas levam o animal ao aumento do número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, enquanto que drogas ansiogênicas induzem ao aumento dos mesmos parâmetros nos braços fechados. Experimento largamente utilizado em modelo animal de ansiedade (LISTER, 1987).

Neste experimento foram utilizados 5 grupos com 12 camundongos por grupo. O primeiro grupo foi tratado com solução salina 0,9% (grupo controle), o segundo grupo com o padrão (diazepam 2 mg kg⁻¹) e os demais grupos com o EPMG em três diferentes doses (200, 300 e 400 mg kg⁻¹). Trinta minutos após a última dose dos 30 dias dos tratamentos cada um dos animais foi colocado no centro do labirinto e observado por um período de cinco minutos, registrando-se o número de entradas e o tempo total de permanência nos braços abertos (**Ilustração 10**).

Ilustração 10: Aparelho utilizado no teste do Labirinto em Cruz Elevada.



Fonte: Arquivo pessoal

3.7.2 Teste do Claro/Escuro

Para este experimento os camundongos foram divididos em cinco grupos (n=12) e tratados conforme os protocolos experimentais (200, 300 e 400 mg kg⁻¹), diazepam (2 mg kg⁻¹, i.p., controle positivo; n=12) e solução salina (controle negativo). Após 30 minutos da última dose dos 30 dias dos tratamentos, os animais foram colocados, um por vez, no equipamento abaixo descrito. O aparato usado é feito de acrílico dividido em 02 compartimentos (*box* claro e *box* escuro) que se comunicam por meio de uma pequena porta (CRAWLEY, 1981). O *box* escuro (acrílico preto, 27 x 18 x 29 cm) é pobremente iluminado. O *box* claro (acrílico transparente, 27 x 18 x 29 cm) é iluminado pela luz do ambiente. Cada um dos animais foi observado por 5 minutos e após cada teste o equipamento foi limpo com solução de etanol a 70%. O parâmetro utilizado foi o tempo de permanência no *box* claro expresso em segundos (**Ilustração 11**).

Ilustração 11: Aparelho utilizado no teste do Claro/Escuro para a avaliação da atividade ansiolítica do animal



Fonte: Arquivo pessoal

3.8 Avaliação do possível efeito na temperatura retal de camundongos tratados com o extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata*

A temperatura retal dos camundongos utilizados em todos os animais dos grupos experimentais foi determinada e registrada no final dos testes comportamentais por meio de um termômetro digital.

3.9 Análise estatística

Os resultados que obedeceram a uma distribuição paramétrica foram analisados pela Análise de Variância (ANOVA) e pelo teste *t-Student Newman Keuls* como *post hoc* teste por meio do programa GraphPad Prism versão 5.00 para Windows. Os dados não paramétricos foram analisados pelo mesmo programa utilizando o teste do qui-quadrado (X^2). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo das propriedades físico-químicas foi verificado em triplicata, a densidade bruta (0.2105 g mL^{-1}) e de compactação (0.2757 g mL^{-1}) do pó obtido das folhas de *M. glomerata* que corresponde a um Fator de Hausner de 1.30, também foi determinado o valor de cinzas totais, que corresponde a 1,174%, bem como foi visto o teor de umidade de 12.33% e por fim foi feita a mensuração da granulometria que correspondeu a um diâmetro médio de $476,2 \mu\text{m}$ (**Tabela 1**). Baseado nestes resultados podemos sugerir a compressão devido a propriedades de fluidez do pó obtido das folhas do material vegetal estudado (PRESCOTT; BARNUM, 2000; STANIFORTH, 2005).

Tabela 1: Avaliação da granulometria do pó obtido a partir das folhas de *M. glomerata*.

CG (μm)	Δm (μm)	m (μm)	F%	$F \times m$
Acima de 1200	-	-	0,12%	0,12
1200 – 850	350	1025	0,26%	266,5
850 – 420	430	635	60,24%	38252,4
420 – 250	170	335	21,38%	7162,3
250 – 180	70	215	6,45%	1386,75
180 – 125	55	152,5	3,57%	544,43
Menores que 125	-	-	6,41%	6,41
Total				47618,91

CG (μm): Classe granulométrica; Δm (μm): intervalo de abertura de malha; m (μm): abertura média da malha; F%: fração retida; $F \times m$: fração retida x abertura média.

$$d = \frac{\sum (\%F) \times (m)}{100}$$

O extrato de *M. glomerata* não alterou a massa corpórea dos animais. Durante o tratamento, não foram observados sinais clínicos de toxicidade nas doses de 200, 300, 400 e 500 mg Kg^{-1} e o registro de morte ocorreu a partir da dose de 1000 mg Kg^{-1} , apresentando por via oral a DL_{50} de 3000 mg Kg^{-1} . Não houve alteração no consumo de água e ração dos animais acompanhados durante os 30 dias (**Tabela 2**).

O acompanhamento da massa corpórea do animal é um importante indicador para a avaliação da toxicidade de uma substância. O tratamento com o extrato de *M. glomerata* durante 30 dias por via oral não alterou o ganho de massa corporal dos camundongos, bem como não foi verificada alteração no consumo de água e ração.

Tabela 2: Toxicidade aguda após tratamento com doses repetidas do extrato etanólico de *M. glomerata* em camundongos.

Dose (mg kg ⁻¹)	Animais		D/T	Latência de Morte	Sintomas de toxicidade	
	Nº/Dose	Sexo				
200	5	Fêmeas	0/5	-	Nenhum	
	5	Machos	0/5	-	Nenhum	
300	5	Fêmeas	0/5	-	Nenhum	
	5	Machos	0/5	-	Nenhum	
400	5	Fêmeas	0/5	-	Nenhum	
	5	Machos	0/5	-	Nenhum	
500	5	Fêmeas	0/5	-	Nenhum	
	5	Machos	0/5	-	Nenhum	
1000	5	Fêmeas	1/5	<12 h	Nenhum	
	5	Machos	0/5	<12 h	Nenhum	
2000	5	Fêmeas	2/5	<12 h	Contorções taquicardia	abdominais,
	5	Machos	0/5	<12 h	Contorções taquicardia	abdominais,
3000	5	Fêmeas	5/5	<12 h	Contorções taquicardia e piloereção	abdominais,
	5	Machos	0/5	<12 h	Contorções taquicardia e piloereção	abdominais,

EPMG= Extrato etanólico padronizado de *M. glomerata*; n/dose = número de animais por dose; D = número de mortes; T = número de animais tratados;

Na avaliação da análise morfológica macroscópica não verificamos nenhuma alteração em nenhum dos órgãos avaliados (**Tabela 3**). De acordo com a literatura o extrato hidro-alcoólico de partes aéreas da mesma espécie não demonstrou efeitos tóxicos, uma vez que não foi observado alteração do peso corpóreo e dos principais órgãos de ratos Wistar (SÁ et al., 2003). Por outro lado, em um estudo realizado por Graça (2004) foi verificado que o extrato etanólico da espécie *Mikania leviagata* Schultz Bip. Ex Baker também pertencente à mesma família da espécie estudada produziu alterações morfológicas macroscópicas do tipo fibrose pulmonar e dilatação pielocalicial renal em animais tratados com uma única dose da solução ou do xarope de partes aéreas de *M. leviagata*. Nesse mesmo estudo também foram observados alterações na massa relativa dos rins e do fígado.

Tabela 3: Análise morfológica macroscópica de camundongos Swiss, tratados com extrato etanólico de *M. glomerata* por via oral durante 30 dias.

Órgãos	Controle (n=10)	EPMG 200 (n=10)	EPMG 300 (n=10)	EPMG 400 (n=10)
Coração	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,01
Fígado	0,82 ± 0,01	0,79 ± 0,02	0,81 ± 0,01	0,82 ± 0,01
Baço	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,08 ± 0,02
Rim	0,11 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,10 ± 0,01
Cérebro	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,16 ± 0,02
Pulmão	0,15 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,02

Os valores representam a média ± E.P.M. dos valores expressos em termos de massa relativa 100 g⁻¹ do número de animais usados nos experimentos. n – representa o número de animais em cada grupo. As vísceras foram cuidadosamente removidas após a eutanásia por aprofundamento de anestesia entérica. Em seguida, dissecadas e determinadas suas massas úmidas em balança analítica;

Hemograma é um exame laboratorial onde permite avaliar de forma quantitativa e qualitativa os elementos figurados do sangue. É composto pelo eritrograma (estudo dos glóbulos vermelhos), leucograma (estudo dos glóbulos brancos) e plaquetograma (estudo das plaquetas).

No eritrograma é executado a contagem de eritrócitos, dosagem de hemoglobina, determinação do hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e amplitude de distribuição dos eritrócitos. Sendo observado no presente trabalho a presença ou ausência de significância entre seus valores.

No eritrograma avalia os eritrócitos, cuja função é o transporte de oxigênio do pulmão aos tecidos, pode ser exercido pelo conteúdo hemoglobínico, sendo sua fisiopatologia essencialmente quantitativa. Assim, a insuficiência funcional do eritrônio, anemia, é definida como diminuição da hemoglobina sanguínea; esta costuma acompanhar-se, mas não necessariamente de modo paralelo, de diminuição do número de eritrócitos (FAILACE, 2009).

Tabela 4: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata* em parâmetros hematológicos de camundongos.

PARÂMETROS	Controle	EPMG 200	EPMG 300	EPMG 400
Hemácias (mm ³)	8,22 ± 0,24	8,18 ± 0,32	8,11 ± 0,28	8,54 ± 0,25
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	13,36 ± 0,05	12,12 ± 0,54	12,44 ± 0,54	14,09 ± 0,51
Hematócrito (%)	41,24 ± 1,32	40,46 ± 1,75	41,44 ± 1,72	39,81 ± 1,62
VCM (fl)	49,67 ± 0,04	58,90 ± 2,56	60,50 ± 3,02	56,20 ± 1,08
HCM (pg)	16,64 ± 0,03	24,28 ± 1,20	24,27 ± 0,82	22,69 ± 1,37
CHCM (g dL ⁻¹)	35,93 ± 0,38	37,01 ± 1,04	37,16 ± 1,11	35,84 ± 0,50
Plaquetas (mm ³)	442,40 ± 27,1	442,90 ± 20,3	440,40 ± 17,8	442,40 ± 16,2
Leucócitos totais (mm ³)	4,92 ± 0,33	4,73 ± 0,54	4,78 ± 0,50	4,14 ± 0,28
Neutrófilos (%)	16,60 ± 0,88	17,38 ± 1,33	17,28 ± 1,14	17,11 ± 1,16
Linfócitos (%)	73,99 ± 2,60	71,00 ± 3,48	70,10 ± 2,84	77,10 ± 2,54
Eosinófilos (%)	0,35 ± 0,01	0,35 ± 0,02	0,35 ± 0,02	0,35 ± 0,03

Os valores representam a média ± E.P.M. do número de animais usados nos experimentos.

No valor do VCM, houve um aumento de 18,5, 21,7 e 13% em relação ao grupo controle, com os grupos tratados com EPMG nas doses de 200, 300 e 400 mg kg⁻¹, respectivamente. Na HCM, houve um aumento, sendo este de 46,4 % com os grupos tratados nas doses de 200 e 300 mgkg⁻¹ em relação ao grupo controle, e de 36,7% na dose de 400 mgkg⁻¹ (Tabela 4).

O tratamento com o EPMG nas doses de 200, 300 e 400 mg kg⁻¹ nos camundongos, não induziu modificações clínicas no perfil hematológico (**Tabela 4**).

Embora alguns parâmetros bioquímicos estivessem dentro dos valores de referência, houve alteração dos valores de creatinina, ácido úrico, triglicerídeos e colesterol total.

Na avaliação da toxicidade aguda não foi verificada alteração na concentração de creatinina (**Tabela 5**) entre os animais dos grupos tratados com EPMG nas doses de 200, 300 e 400 mg kg⁻¹ em comparação ao grupo controle. Por outro lado, quando comparamos os níveis de uréia dos grupos tratados com as mesmas doses (200, 300 e 400 mg kg⁻¹) foi verificada uma redução de 29,3, 20,3 e 62,7%, respectivamente, em comparação ao grupo controle.

Tabela 5: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata* em parâmetros bioquímicos de camundongos.

Parâmetros	Controle (n=10)	EPMG 200 (n=10)	EPMG 300 (n=10)	EPMG 400 (n=10)
Glicose (mg dL ⁻¹)	93,14 ± 1,47	95,50 ± 1,32	92,09 ± 2,07	96,70 ± 1,93
Uréia (mg dL ⁻¹)	54,67 ± 0,30	38,70 ± 3,80	43,60 ± 4,44	20,40 ± 1,54
Creatinina (mg dL ⁻¹)	0,43 ± 0,43	0,47 ± 0,31	0,47 ± 0,58	0,69 ± 0,94
Ácido úrico (mg dL ⁻¹)	2,61 ± 0,04	0,87 ± 0,12	0,10 ± 0,09	0,89 ± 0,09
Triglicerídeos (mg dL ⁻¹)	106,7 ± 0,05	70,20 ± 6,07	86,60 ± 7,83	69,50 ± 7,24
CT (mg dL ⁻¹)	82,35 ± 2,47	66,50 ± 4,49	65,80 ± 4,79	67,80 ± 4,85
Proteínas totais (mg dL ⁻¹)	6,10 ± 0,25	5,60 ± 0,13	5,90 ± 0,12	6,32 ± 0,23
AST (U mL ⁻¹)	90,33 ± 2,09	83,40 ± 3,01	93,60 ± 2,93	95,10 ± 5,32
ALT (U mL ⁻¹)	61,34 ± 1,43	46,90 ± 1,86	46,60 ± 4,18	65,00 ± 4,21
Fosfatase alcalina (U l ⁻¹)	157,60 ± 0,97	106,10 ± 1,30	113,40 ± 4,71	126,50 ± 4,54
Bilirrubina total (mg dL ⁻¹)	0,26 ± 0,02	0,15 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,31 ± 0,03
Bilirrubina direta (mg dL ⁻¹)	0,15 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,21 ± 0,03

Os valores representam a média ± E.P.M. do número de animais usados nos experimentos. n – representa o número de animais em cada grupo.

Dessa forma, por meio da ausência de modificações na concentração da creatinina, mais sensível indicador de lesão renal, bem como pelas alterações observadas nos níveis da uréia podemos sugerir que EPMG pode produzir apenas alterações primárias das condições renais.

Pode-se verificar também alteração nos níveis de triglicerídeos e nos níveis de colesterol total nos grupos tratados com EPMG nas doses de 200, 300 e 400 mg/kg em comparação ao grupo controle, havendo uma redução em ambos os níveis. Nos níveis de triglicerídeos a redução foi de 34,2, 18,8 e 34,8%, respectivamente. Nos níveis de colesterol total a redução foi de 19,3, 20,2 e 17,7%, respectivamente.

Foi determinado também para a avaliação da toxicidade aguda os níveis sanguíneos de ácido úrico em camundongos tratados com EPMG nas doses de 200, 300 e 400 mg kg⁻¹ por via oral. Foi verificada alteração na concentração sanguínea de ácido úrico, caracterizada por uma redução de 66,6, 96,2 e 65,9%, respectivamente, em comparação ao grupo controle, sugerindo que EPMG pode não favorecer o desenvolvimento de cálculo renal, uma vez que não alterou o metabolismo do ácido úrico nos rins.

A ansiedade pode causar vários sintomas como insônia, tremores incontroláveis, tonturas e irritabilidade. A metodologia proposta tem como objetivo avaliar estes sintomas por meio de testes comportamentais como labirinto em cruz elevado, campo aberto e tempo de permanência em campo claro, essas mudanças visam investigar as prováveis atividades sedativas, ansiolíticas e motoras dos animais, respectivamente.

No presente trabalho, os efeitos centrais do extrato padronizado de *Mikania glomerata* foram estudados. O teste de campo aberto foi utilizado para avaliar a atividade exploratória do animal, bem como sua atividade locomotora espontânea, *rearing* e *grooming* que são parâmetros comportamentais comumente usados para simular as influências dos acontecimentos da vida ou pela administração de drogas (REX; STEPHENS; FINK, 1996). O EPMG foi primeiramente avaliado no teste de campo aberto, que dá uma boa indicação do estado emocional do animal, uma vez que se admite que o *rearing* é observado em função do nível de excitabilidade do SNC. Alguns autores relataram que o *rearing* reflete o comportamento exploratório de um animal e, portanto, substâncias ansiolíticas induzem um aumento na atividade ou não altera este parâmetro, sugerindo também que os agentes ansiolíticos e sedativos podem diminuir este parâmetro, demonstrando apresentar atividade miorrelaxante (MASUR; MARTZRMW; CARLINI, 1971).

Quase todos os animais gastam uma parcela significativa do tempo realizando o *grooming*, que consiste em lambar a pata e limpar a cabeça e focinho com o movimento

repetitivo usando as patas dianteiras (KRUK et al., 1998). Na literatura, o aumento do *grooming* é observado em roedores que estão ansiosos, os pesquisadores descobriram que as drogas ansiolíticas reduzem este parâmetro no campo aberto (BARROS et al., 1994). Estudos demonstram que o número de cruzamentos dá uma indicação do nível de excitabilidade do SNC, portanto, substâncias psicoestimulantes aumentam este parâmetro (MUELLER et al., 1989).

No que se refere aos estudos comportamentais os resultados mostram uma redução de 55 ($p < 0.001$) e 34% ($p < 0.001$) no número de cruzamentos nos animais tratados com EPMG nas doses de 200 e 300 mg kg⁻¹, quando comparado ao grupo controle, respectivamente. Diferentemente, no grupo tratado com a dose de 400 mg kg⁻¹, houve um aumento de 4% em relação ao mesmo parâmetro, quando comparado ao grupo controle. Em relação ao número de *groomings*, houve uma redução de 28 ($p < 0.05$), 47 ($p < 0.001$) e 87% ($p < 0.001$) nos grupos tratados com as doses de 200, 300 e 400 mg kg⁻¹ em comparação ao grupo controle, respectivamente. Além disso, no número de *rearings*, também foi verificada uma redução de 96,5 ($p < 0.001$), 85,4 ($p < 0.001$) e 71% ($p < 0.001$) nos grupos tratados com 200, 300 e 400 mg kg⁻¹ do EPMG, em comparação ao grupo controle, respectivamente (**Tabela 6**). No grupo tratado com diazepam foi verificada uma redução nos três parâmetros analisados em comparação ao grupo controle ($p < 0.001$) (**Tabela 6**).

Os resultados têm mostrado que EPMG foi capaz de diminuir significativamente o número de cruzamentos, *groomings* e *rearing*, reduzindo a atividade locomotora, o que pode ser um indicativo de efeito sedativo e relaxante muscular.

Tabela 6: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata* no teste do campo aberto.

Grupos (n)	Número de cruzamentos	Número de <i>groomings</i>	Número de <i>rearings</i>
Controle (12)	99,2 ± 13,0	4,71 ± 0,5	45,2 ± 3,8
Diazepam (12)	38,2 ± 2,4 ^a	2,50 ± 0,4 ^a	13,2 ± 0,9 ^a
EPMG 200 (12)	44,8 ± 5,4 ^{a,b}	2,49 ± 0,4	1,6 ± 0,5 ^{a,b}
EPMG 300 (12)	65,5 ± 6,6 ^{a,b}	2,51 ± 0,5	6,6 ± 1,5 ^{a,b}
EPMG 400 (12)	103,4 ± 2,3 ^{a,b,c,d}	0,60 ± 0,2 ^{a,b}	13,3 ± 1,2 ^{a,c,d}

Os valores representam a média ± E.P.M. do número de animais usados nos experimentos. n = representa o número de animais em cada grupo. ^ap<0,05, quando comparado ao grupo controle (ANOVA e *t*-Student-Newman-Keuls como *post hoc* teste); ^bp<0,05, quando comparado ao grupo diazepam (DZP) (ANOVA e *t*-Student-Newman-Keuls como *post hoc* teste); ^cp<0,05, quando comparado ao grupo EPMG 200 (ANOVA e *t*-Student-Newman-Keuls como *post hoc* teste); ^dp<0,05, quando comparado ao grupo EPMG 300 (ANOVA e *t*-Student-Newman-Keuls como *post hoc* teste).

Quando comparamos os efeitos do EPMG nos mesmos parâmetros aos resultados do grupo tratado com diazepam verificamos um aumento de 17, 71 (p<0,01) e 170% (p<0,001) no número de cruzamentos dos grupos tratados com as doses de 200, 300 e 400 mg kg⁻¹, respectivamente. Por sua vez, no número de *groomings* foi verificado um aumento de 36% e uma redução de 76% (p<0,01) nos grupos tratados com 200 e 400 mg kg⁻¹ de EPMG, respectivamente, em comparação ao grupo DZP. E em relação ao número de *rearings* foi verificada somente uma redução de 88% (p<0,001) e 50% (p<0,01) nos animais tratados com 200 e 300 mg kg⁻¹, em comparação ao grupo DZP, respectivamente.

O EPMG também mostrou efeito ansiolítico, quando avaliados nos testes do labirinto em cruz elevado e claro e escuro. A ansiedade é um sintoma que acompanha diversos distúrbios do SNC e por si só é uma doença, que pode ser caracterizada em seres humanos por um estado de tensão e alerta físico exaustivo (JACKSON; TURKINGTON, 2005). Outras espécies exibem uma variedade de reações defensivas em resposta a predadores, alguns entendem como estados de ansiedade correlacionados (RODGERS et al., 1995). O labirinto em cruz elevado tem sido freqüentemente usado para detectar e avaliar propriedades ansiolíticas/ansio gênicas de drogas (TAKEDA; TSUJI; MATSUMIYA, 1998). A frequência e o tempo gasto nos braços abertos são os maiores índices da ansiedade no modelo de labirinto

em cruz, uma vez que os roedores são extremamente aversivos a área aberta (PELLOW; FILE, 1986).

Os resultados demonstraram que o EPMG também foi capaz de aumentar significativamente a porcentagem do número de permanência, bem como do número de entradas nos braços abertos, o que sugere uma resposta positiva no teste.

No teste do labirinto em cruz elevado os grupos tratados com as doses de 200 e 300 mg kg⁻¹, foi verificada uma redução de 11 e 33% quando comparado ao grupo controle em relação ao parâmetro número de entrada nos braços abertos (NEBA), respectivamente. Já na dose de 400 mg kg⁻¹, houve um aumento de 6% em relação ao mesmo parâmetro. Quando a comparação é feita em relação à porcentagem do mesmo (%NEBA), observa-se um aumento nas três doses (25 [p<0,001], 20 [p<0,001] e 24% [p<0,001], respectivamente). Em relação ao parâmetro tempo de permanência nos braços abertos (TPBA), houve apenas uma redução nas doses de 300 (38%, p<0,001) e 400 mg kg⁻¹ (6%, p> 0,05) em comparação ao grupo controle. Quando a comparação é feita em relação à porcentagem do mesmo (%TPBA), verifica-se também a mesma redução nas dosagens de 300 (38%) e 400 mg kg⁻¹ (6%). No grupo tratado com diazepam foi verificado um aumento nos quatro parâmetros analisados em comparação ao grupo controle (p<0,001).

Na comparação dos efeitos do EPMG nos mesmos parâmetros aos resultados do grupo tratado com diazepam foi verificado uma redução em relação a todos esses parâmetros. No NEBA houve uma redução de 39,5 (p< 0,001), 54,2 (p<0,001) e 27,4% (p< 0,001) dos grupos tratados com as doses de 200, 300 e 400 mg kg⁻¹ em comparação ao grupo DZP, respectivamente. Em relação à porcentagem do mesmo (%NEBA), a redução é de 33,7 (p< 0,001), 36,1 (p< 0,001) e 34,2 (p< 0,001) nos grupos tratados com 200, 300 e 400 mg kg⁻¹ de EPMG, em comparação ao grupo DZP, respectivamente. Em relação ao TPBA foi verificada uma redução de 41 (p<0,001), 63,7 e 44,7% (p<0,001) nos animais tratados com 200, 300 e 400 mg kg⁻¹, em comparação ao grupo DZP, respectivamente. Em relação à porcentagem do mesmo (%TPBA), essa redução é de 40,7, 63,5 e 44,5% (p<0,001) nas mesmas doses.

Tabela 7: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata* no teste do labirinto em cruz elevada (*plus maze*).

Parâmetros	Veículo	DZP	EPMG 200	EPMG 300	EPMG 400
NEBA	10,7 ± 0,7	15,7 ± 0,3 ^a	9,5 ± 0,6 ^{a,b}	7,2 ± 1,1 ^{a,b}	11,4 ± 0,2 ^{a,b}
% NEBA	40 ± 2,3	75,4 ± 2,1 ^a	50,0 ± 0,7 ^{a,b}	48,2 ± 1,0 ^{a,b}	49,6 ± 0,5 ^{a,b}
TPBA	122,5 ± 6,4	208,4 ± 3,6 ^a	123,0 ± 12,0 ^b	75,7 ± 13,4 ^{a,b}	115,3 ± 5,3 ^b
% TPBA	40,8 ± 2,2	69,3 ± 1,3 ^a	41,1 ± 5,3 ^b	25,3 ± 4,5 ^{a,b}	38,5 ± 1,8 ^b

Os valores representam a média ± E.P.M. do número de animais usados nos experimentos. n = representa o número de animais em cada grupo. ^ap<0,05, quando comparado ao grupo controle (ANOVA e teste t-Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*); ^bp<0,05, quando comparado ao grupo DZP (ANOVA e teste t-Student-Newman-Keuls como *post hoc* teste); ^cp<0,05, quando comparado ao grupo EPMG 200 (ANOVA e teste t-Student-Newman-Keuls como *post hoc* teste); ^dp<0,05, quando comparado ao grupo EPMG 300 (ANOVA e teste t-Student-Newman-Keuls como *post hoc* teste);

No teste do campo claro e escuro, houve um aumento no tempo de permanência nas doses testadas de forma semelhante ao observado com o grupo DZP, sugerindo uma provável atividade ansiolítica.

Nos grupos tratados com as doses de 200, 300 e 400 mgkg⁻¹, foi verificada um aumento de 27, 49 e 7% (p< 0.001), respectivamente, quando comparado ao grupo controle em relação ao parâmetro tempo de permanência no box claro (TPBC). Quando comparamos os efeitos do EPMG nos mesmos parâmetros aos resultados do grupo tratado com diazepam verificamos uma redução de 16 (p<0.001), 2 (p<0.001) e 29,7% (p<0.001) no TPBC dos grupos tratados com as doses de 200, 300 e 400 mg kg⁻¹, respectivamente, em comparação ao grupo DZP.

Tabela 8: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata* no teste do claro/escuro.

Parâmetros	TPBC(s)
Controle	104,2 ± 4,0
Diazepam	158,1 ± 2,9 ^a
EPMG 200	132,8 ± 10,4 ^{a,b}
EPMG 300	158,9 ± 20,9 ^{a,c}
EPMG 400	159,1 ± 6,2 ^{a,c}

Os valores representam a média \pm E.P.M. do número de animais usados nos experimentos. ^a $p < 0,05$, quando comparado ao grupo controle (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste); ^b $p < 0,05$, quando comparado ao grupo DZP (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste); ^c $p < 0,05$, quando comparado ao grupo EPMG 200 (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste); ^d $p < 0,05$, quando comparado ao grupo EPMG 300 (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste).

Os resultados mostram um aumento de 150, 93 e 86% ($p < 0,001$) em relação ao parâmetro número de quedas nos animais tratados com EPMG nas doses de 200, 300 e 400 mg kg^{-1} , quando comparado ao grupo controle, respectivamente. Sendo confirmado pela redução do tempo de permanência na barra, que foi de 12, 10 e 11% nas mesmas doses **(Tabela 8)**.

Quando comparamos os efeitos do EPMG nos mesmos parâmetros aos resultados do grupo tratado com diazepam verificamos um aumento de 52,2 ($p < 0,001$), 17,4 ($p < 0,001$) e 13% ($p < 0,001$) no parâmetro número de quedas nos animais tratados com EPMG nas doses de 200, 300 e 400 mg kg^{-1} , respectivamente. Por sua vez, no tempo de permanência na barra foi verificado uma redução de 7,3 ($p < 0,001$), 6,1 ($p < 0,001$) e 6,4 ($p < 0,001$) nos grupos tratados com 200, 300 e 400 mg kg^{-1} de EPMG, em comparação ao grupo DZP, respectivamente.

Tabela 9: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata* no teste do *rota Rod*.

Parâmetros	Veículo	DZP	EPMG 200	EPMG 300	EPMG 400
Nº de quedas	1,4 \pm 0,3	2,3 \pm 0,5 ^a	3,5 \pm 1,6 ^{a,b}	2,7 \pm 1,5 ^{a,b}	2,6 \pm 0,7 ^{a,b}
TP (s)	178,7 \pm 0,6	171,0 \pm 1,4 ^a	158,5 \pm 8,6 ^{a,b}	160,7 \pm 10,6 ^{a,b}	160,0 \pm 5,3 ^{a,b}

Os valores representam a média \pm E.P.M. do número de animais usados nos experimentos. ^a $p < 0,05$, quando comparado ao grupo controle (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste); ^b $p < 0,05$, quando comparado ao grupo DZP (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste); ^c $p < 0,05$, quando comparado ao grupo EPMG 200 (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste); ^d $p < 0,05$, quando comparado ao grupo EPMG 300 (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste).

Nos grupos tratados com as doses de 200, 300 e 400 mg kg^{-1} do EPMG, foi verificada uma redução de 12, 12 e 9% ($p < 0,001$), respectivamente, na temperatura retal quando comparado ao grupo controle. Quando comparamos os efeitos do EPMG no mesmo parâmetro aos resultados do grupo tratado com diazepam verificamos uma redução de 10,2 ($p < 0,001$), 10,4 ($p < 0,001$) e 7,2% ($p < 0,001$) sobre a verificação da temperatura retal nos grupos tratados com as doses de 200, 300 e 400 mg kg^{-1} , respectivamente.

Tabela 10: Avaliação dos efeitos do extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata* sobre a verificação da temperatura retal.

Parâmetro	VEÍCULO	DZP	MG 200	MG 300	MG 400
T (°C)	38,0 ± 0,3	37,4 ± 0,6 ^a	33,6 ± 0,1 ^{a,b}	33,5 ± 0,1 ^{a,b}	34,7 ± 0,1 ^{a,b}

Os valores representam a média ± E.P.M. do número de animais usados nos experimentos. n = representa o número de animais em cada grupo. ^ap<0,05, quando comparado ao grupo controle (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste); ^bp<0,05, quando comparado ao grupo DZP (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste); ^cp<0,05, quando comparado ao grupo EPMG 200 (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste); ^dp<0,05, quando comparado ao grupo EPMG 300 (ANOVA e teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste).

Nossos resultados apontam que o efeito sedativo, assim, como efeito ansiolítico de EPMG possivelmente envolvem o complexo do receptor GABA_A no cérebro de camundongos. Assim, os efeitos ansiolíticos e hipnóticos de EPMG podem ser causados por sua ação combinada de vários sistemas de neurotransmissores e receptores, incluindo os receptores GABA_A.

Nossos resultados dão suporte à idéia de que o EPMG pode interagir com o receptor GABA_A, provavelmente nos subtipos de receptores que promovem os efeitos benzodiazepínicos, para produzir atividades sedativa e hipnótica. Estudos adicionais, no entanto, devem ser realizados para esclarecer totalmente o mecanismo dos efeitos ansiolíticos e sedativos de EPMG. Além disso, o EPMG pode manifestar esses efeitos ansiolíticos em algumas doses, sem produzir atividades sedativas ou hipnóticas, sendo, portanto, potencialmente útil na prática clínica para o tratamento da ansiedade.

5. CONCLUSÃO

Com base nos estudos realizados durante a avaliação das propriedades físico-químicas do pó obtido a partir das folhas de *M. glomerata* podemos sugerir que o pó pode ser usado na formulação de uma forma farmacêutica sólida, bem como podemos sugerir que o extrato etanólico pode ser usado de forma segura, uma vez que apresentou um valor para a DL₅₀ que pode ser classificado como moderadamente tóxico, bem como não produziu nenhuma alteração morfológica nos principais órgãos e discretas mudanças em parâmetros bioquímicos e hematológicos de camundongos, que não produzem alterações clínicas.

Pode-se observar que o EPMG pode manifestar efeitos ansiolíticos em algumas das doses testadas em camundongos, sem produzir atividades sedativas, sendo, portanto, potencialmente útil para sua avaliação como possível alternativa na prática clínica para o tratamento da ansiedade.

6. PERSPECTIVAS

- Fornecer subsídios para transformar o extrato e o pó de *M. glomerata* em um produto fitoterápico de qualidade, com segurança e eficácia comprovada para o uso seguro no tratamento da ansiedade;
- Avaliar, isolar e purificar os componentes químicos do extrato;
- Investigar os mecanismo de ação do efeito ansiolítico através do uso de antagonista do receptor de ação;

REFERÊNCIAS

ANDREATINI, R.; BOERNGEN-LACERDA, R.; ZORZETTO FILHO, D. Pharmacological treatment of generalized anxiety disorder: future perspectives. **Rev. Bras. Psiquiatr.** v. 23, p. 233-242, 2001.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice. A review. **Anim. Behav.**, v. 21, p. 205-235, 1973.

ARGYROPOULOS, S.V.; SANDFORD, J.J.; NUTT, D.J. The psychobiology of anxiolytic drugs. Part 2: pharmacological treatments of anxiety. **Pharmacol Ther.** v. 88, p. 213-227, 2000.

AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas.** Porto Alegre: Artmed, 2005.

BARROS, H.M.; TANNHAUSER, S.L.; TANNHAUSER, A.L.; TANNHAUSER, M. The effects of GABAergic drugs on grooming behavior in the open field. **Pharmacol Toxicol** v. 74, p. 339-344, 1994.

BREMER, K. **Asteraceae. Cladistics and Classification.** Portland, Oregon: Timber Press, p. 752, 1994.

BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. **GOODMAN & GILMAN: As Bases Farmacológicas da Terapêutica.** Artmed. 11 ed, p. 383-410, 2010.

CARDOSO, M.L.C. **Desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológica na obtenção de extratos secos nebulizados de Heteropteris afrodisíaca O. Madi. O – Malpighiaceae.** Tese de Doutorado – Universidade Estadual de São Paulo, Araraquara, 2002.

CARLINI, E.A.; BURGOS, V. *Screening* farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre o diazepam e o clorobenzapam. **Rev. Ass. Bras. Psiq.**, v. 1, p. 25-31, 1979.

CELEGHINI, R.M.S.; VILEGAS, J.H.Y.; LANÇAS, F.M. Extraction and quantitative HPLC analysis of coumarin in hydroalcoholic extracts of *Mikania glomerata* Sprengel "guaco" leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 706-709, 2001.

CRAWLEY, J.N. Neuropharmacologic specificity of a simple model for the behavioural actions of benzodiazepines. **Pharm. Biochem. Behav.**, v. 15, p. 695-699, 1981.

CUNHA, C.L. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2A, p. 403-11, 2009.

FAILACE, R. **Hemograma; Manual de Interpretação**. 5ª ed., Porto Alegre: Artes Médicas, 2009.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 4ª Ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FERREIRA, S.H. **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2002.

FLECKNELL, P. **Laboratory Animal Anesthesia**. 2ª ed. New York: Academic Press, p. 274, 1996.

GASPARETTO, J.C.; CAMPOS, F.R.; BUDEL, J.M.; PONTAROLO, R. *Mikania glomerata* Spreng. e *M. laevigata* Sch. Bip. ex Baker, Asteraceae: estudos agrônômicos, genéticos, morfoanatômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e uso nos programas de fitoterapia do Brasil. **Rev Bras de Farmacogn**. v. 20, p. 627-640, 2010.

GARAKANI, A.M.D.; MATHEUS, S.J.M.D.; CHARNEY, D.S.M.D. Neurobiology of Anxiety. Disorders and Implications for treatment. **Mt Sinai J Med**. v. 73, p. 941-949, 2006.

GRAÇA, C. **Determinação da toxicidade pré-clínica do xarope de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker) em roedores**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. p. 116, 2004.

GRAEFF, F.G. Medicamentos ansiolíticos. In: Graeff FG, Guimarães FS. **Fundamentos de psicofarmacologia**. São Paulo: Atheneu; p. 123-160, 1999.

GUO, A.; BEDDOWA, J.K.; VETTERA, A.F. A simple relationship between particle shape effects and density, flow rate and hausner ratio. **Powder Technology**, v. 43, p. 279-284, 1985.

HAN, H.; MA, Y.; EUN, J.S.; LI, R.; HONG, J.T.; LEE, M.K.; OH, K.W. Anxiolytic-like effects of sanjoinine A isolated from *Zizyphi Spinosi* Semen: Possible involvement of GABAergic transmission. **Pharmacol Biochem Behav.** v. 92, p. 206-213, 2009.

JACKSON, M.J.; TURKINGTON, D. Depression and anxiety in epilepsy. **J Neurol Neurosurg Psychiatry.** v. 76, p. 45-47, 2005.

KOHN, D.F. **Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals.** ACLAM, Academic Press, New York. p. 426, 1997.

KRUK, M.R.; WESTPHAL, K.G.; VANERP, A.M.; VAN, A.J.; CAVE, B.J.; SLATER, E. DE KONING, J.; HALLER, J. The hypothalamus: cross-roads of endocrine and behavioural regulation in grooming and aggression. **Neurosci Biobehav Rev** v. 23, p.163-177, 1998.

LENT, R. **Cem Bilhões de Neurônios - Conceitos Fundamentais de Neurociências.** Editora Atheneu, p. 651-668, 2004.

MALONE, M.H.; ROBICHAUD, R.C. A Hippocratic screen for pure or crude drug materials. **Lloydia.**, v. 25, p. 320-332, 1962.

MARQUES, T.H.C.; MELO, C.H.S.; FREITAS, R.M. Evaluation antioxidant activity *in vitro* and anxiolytic- and antidepressant-like of the ethanolic extract from *Bellis perennis*. **Rev Bras Farmacogn.** 2012.

MASUR, J.; MARTZRMW; CARLINI, E.A. Effects of acute and chronic administration of Cannabis sativa and (-) α 9-trans-tetrahydrocannabinol on the behavior of rats in an open field arena. **Psychopharmacology.** v. 19, p. 338-397, 1971.

MEDICINA e SAÚDE, **História da Medicina**, Ed. Abril, v. 1, 1969.

MITTE, K. A meta-analysis of the efficacy of psycho-and pharmacotherapy in panic disorder with and without agoraphobia. **Journal of affective disorders**, v. 88, p. 27-45, 2005.

MUELLER, K.; KUNKO, P.M.; WHITESIDE, D.; HASKETT, C. Time course of amphetamine-induced locomotor stereotypy in an open field. **Psychopharmacology**. v. 99, p. 501-507, 1989.

OLIVEIRA, F. Contribuição para o estudo botânico de *Mikania hirsutissima* DC. var *hirsutissima*. II Morfologia externa e anatomia da folha, flor, fruto e semente. **Revista de Farmácia e Bioquímica**, v. 10, p. 15-36, 1972.

OLIVEIRA, F. Isolamento e identificação de componentes químicos de *Mikania glomerata* Sprengel e de *Mikania laevigata* Schultz Bip, ex Baker. **Revista de Farmácia e Bioquímica**, v. 20, p. 169-183, 1984.

OLIVEIRA, D.F.; PEREIRA, A.C.; FIGUEIREDO, H.C.P.; CARVALHO, D.A.; SILVA, G.; NUNES, A.S.; ALVES, D.S.; CARVALHO, H.W.P. Antibacterial activity of plant extracts from Brazilian southeast region. **Fitoterapia**. v. 78, p. 142-145, 2007.

PANIZZA, S. **Plantas que Curam: cheiro de mato**. 25ª ed. São Paulo: IBRASA, p. 280, 1997.

PASSOS, C.S.; ARBO, M.D.; RATES, S.M.K.; POSER, G.L.V. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Rev Bras Farmacogn**. v.19, p. 140-149, 2009.

PELLOW, S.; FILE, S.E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. **Pharmacol Biochem Behav**. v. 24, p. 525-529, 1986.

PRESCOTT, J.K.; BARNUM, R.A. Sobre a fluidez de pós. **Pharmaceutical Technology**, v. 4, n. 6, p. 16-30, 2000.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. 2º ed., Rio de Janeiro, p. 707, 1984.

PROVENSI, G. **Investigação da atividade ansiolítica de *Passiflora alata* Curtis** (Passifloraceae). Dissertação. Porto Alegre: Faculdade de Farmácia, UFRGS, 2007.

RABBANI, M.; SAJJADI, S.E.; MOHAMMADI, A. Evaluation of the anxiolytic effect of *Nepeta persica* Boiss. in mice. **eCAM Advance Access Publication**. v. 5, p. 181-186, 2008.

REX, A.; STEPHENS, D.N.; FINK, H. "Anxiolytic" action of diazepam and abecarnil in a modified open field test. **Pharmacol Biochem Behav**. v. 53, p. 1005-1012, 1996.

RIBEIRO, R.A.; MELO, M.R.F.; BARROS, F.; GOMES, C.; TROLIN, G.F. Acute antihypertensive effect in conscious rats produced by some medicinal plants used in the state of Sao Paulo. **J Ethnopharmacol**. v.15, p. 261-269, 1986.

RITTER, M.R.; MIOTTO, S.T.S. Taxonomia de *Mikania* Willd. (Asteraceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Hoehnea**, v. 32, p. 309-359, 2005.

RODGERS, R.J.; COLE, J.C.; ABOUALFA, K.; STEPHENSON, L.H. Ethopharmacological analysis of the effects of putative 'anxiogenic' agents in the mouse elevated plus-maze. **Pharmacol Biochem Behav**. v. 52, p. 805-813, 1995.

SÁ, R.C.S. Evaluation of long-term exposure to *Mikania glomerata* (Sprengel) extract on male Wistar rats' reproductive organs, sperm production and testosterone level. **Contraception**, v. 67, p. 327-31, 2003.

SCHWEIZER, E.; RICKELS, K. Benzodiazepine dependence and withdrawal: a review of the syndrome and its management. **Acta Psychiatr Scand**. v. 98, p. 95-101, 1998.

SHADER, R.I.; GREENBLATT, D.J. Use of benzodiazepines in anxiety disorders. **New Engl J Med**. v. 328, p. 1398-1405, 1993.

SILVA, A.F.S.; ANDRADE, J.P.; BEVILAQUA, L.R.M.; SOUZA, M.M.; IZQUIERDO, I.; HENRIQUES, A.T.; ZUANAZZI, J.A.S. Anxiolytic-, antidepressant- and anticonvulsant-like effects of the alkaloid montanine isolated from *Hippeastrum vittatum*. **Pharmacol Biochem Behav**. v. 85, p. 148-154, 2006.

SILVA, L.L.S.; LIMA, E.O.; NASCIMENTO, S.C.; MOTA, D.L.; SILVA, N.H.; ALMEIDA, E.R.; SILVA, M.G.S. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Dioclea grandiflora* Mart. ex. Benth., Fabaceae. **Rev Bras de Farmacogn.** v. 20, p. 208-214, 2010.

STANIFORTH, J.N. Fluxo de pós. In: AULTON, M. E., (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas.** 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, p. 208-221, 2005.

STOPPE Jr. A.; CORDAS, T.A. Síndrome do pânico. **Rev Bras Med.** v. 58, p. 475-479, 2001.

TALEB-CONTINI, S.H.; SANTOS, P.A.; VENEZIANI, R.C.S.; PEREIRA, A.M.S.; FRANÇA, S.C.; LOPES, N.P.; OLIVEIRA, D.C.R. Differences in secondary metabolites from leaf extracts of *Mikania glomerata* Sprengel obtained by micropropagation and cuttings. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 16, p. 596-98, 2006.

TAKEDA, H.; TSUJI, M.; MATSUMIYA, T. Changes in head-dipping behavior in the holeboard test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. **Eur J Pharmacol** v. 350, p. 21-29, 1998.

TESKE, M.; TRENTINI, A.M.M. **Herbarium Compêndio de Fitoterapia.** 3ª ed. Herbarium, Curitiba, PR. p.160, 1997. 317p.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 30th ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2007.

VENÂNCIO, E.T.; RIOS, E.R.V.; SOUSA, F.C.F.; VASCONCELOS, S.M.M.; VIANA, G.S.B.; FONTELES, M.M.F. Neurobiologia das emoções e principais alvos farmacológicos: foco sobre medo e ansiedade. **Rev Eletrônica Pesquisa Médica.** v. 2, p. 18-26, 2008.

VENEZIANI, R.C.S.; OLIVEIRA, D.C.R. Constituents of *Mikania glomerata*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 27, n. 1, p. 99-102, 1999.

VIJAYALAKSHMI, T.; MUTHULAKSHMI, V.; SACHDANANDAM, P. Toxic studies on biochemical parameters carried out in rats with serankottai nei, a siddha drug-milk extract of *Semecarpus anacardium* nut. **J Ethnopharmacol.**, v. 69, p. 9-15, 2000.

WRIGHT, C.L.; VAN-BUREN, L.; KRONER, C.I.; KONING, M.M.G. Review: Herbal medicines as diuretics: A review of the scientific evidence. **J Ethnopharmacol.** v. 114, p. 1-31, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: **New WHO guidelines to promote proper use in alternative medicines.** Geneva: WHO, 2004.

WANCZINSKI, B.J.; FELIPE, D.F.; CARDOSO, M.L.C.; CAVALCANTE, O.A. Desenvolvimento de comprimidos de AAS 500 mg: influência do Amido 1500[®] na compressão direta. **Acta Scientiarum.** v. 24, n. 3, p. 649-655, 2002.