

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE-PPGCS**

**AVALIAÇÃO PSICOFARMACOLÓGICA DE
Ageratum conyzoides L. ASTERACEAE**

**Aluno: Braulio Tercius Escobar
Orientadora: Dra. Luciane Costa Campos**

**Criciúma
2007**

BRAULIO TERCIUS ESCOBAR

AVALIAÇÃO PSICOFARMACOLÓGICA DE
***Ageratum conyzoides* L. ASTERACEAE**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências da Saúde, como requisito à obtenção do grau de Mestre em Saúde, pela Universidade do Extremo Sul Catarinense, sob a orientação da Professora Dra. Luciane Costa Campos.

Orientadora: Dra. Luciane Costa Campos

Criciúma, 2007

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Vitor e através deste, estendo a todas as pessoas com as quais convivi e me auxiliaram nesse projeto, principalmente ao nosso grupo de estudos. A minha orientadora, Doutora Luciane Costa Campos, que é a responsável pela orientação na formulação, construção e execução de todo este trabalho.

“O que é então uma erva daninha senão uma planta cujas virtudes ainda não foram descobertas” (R. W. Emerson)

RESUMO

O transtorno de depressão altera a maneira como a pessoa vê o mundo e sente a realidade, entende as coisas, manifesta emoções, sente a disposição e o prazer com a vida. Ela afeta a forma como a pessoa se alimenta e dorme, como se sente em relação a si próprio e como pensa sobre as coisas. O risco de suicídio é inerente à depressão grave e pode persistir até que ocorra remissão significativa. Muitos pacientes são relutantes em utilizar fármacos antidepressivos, principalmente por estes estarem associados a efeitos adversos como inabilidade para dirigir, boca seca, constipação, disfunção sexual, entre outros. Dessa forma, os tratamentos alternativos como, por exemplo, as plantas medicinais, têm sido escolhidas por muitos pacientes depressivos. Uma planta em particular é o *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae), largamente utilizada pela população da região de Criciúma. As propriedades atribuídas a ela por esta população são de tratar depressão, reumatismo, dores articulares e edemas, analgésico e antiinflamatório, cólicas menstruais, combate à tosse e no tratamento de psoríase. Na literatura não se encontra nenhum trabalho científico investigando as propriedades psicofarmacológicas dessa espécie. Dessa forma, este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antidepressiva do extrato hidroalcoólico de *Ageratum conyzoides* L. em camundongos utilizando modelos comportamentais. Investigou-se também a indução de toxicidade pela administração aguda do extrato hidroalcoólico através de parâmetros definidos. Os resultados obtidos neste estudo mostram que *A. conyzoides* aumentou o tempo de imobilidade no teste do nado forçado nas doses de 75,0 e 150,0 mg/kg, e no teste de suspensão da cauda na dose de 25,0 mg/kg. O extrato não alterou a atividade locomotora espontânea e a coordenação motora dos animais. Foi observada alteração apenas na dose de 50,0 mg/kg aos 60 minutos de observação no teste do rota-rod. Estes resultados sugerem que o extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* possui propriedade antidepressiva, principalmente em baixas doses. Entretanto, no modelo de toxicidade aguda o extrato mostrou-se tóxico sobre vários parâmetros em todas as doses testadas, sendo observada maior toxicidade sobre camundongos fêmeas. Os efeitos tóxicos observados podem ser devido à presença de alcalóides pirrolizidínicos nesta espécie. Todavia, outros estudos são necessários para melhor avaliar as propriedades psicofarmacológicas de *A. conyzoides*, além de melhor investigar seus efeitos tóxicos para utilização mais segura pela população.

Palavras-chaves: depressão, plantas medicinais, *Ageratum conyzoides* L., toxicidade.

ABSTRACT

The depression modifies the way as the person sees the world and feels the reality, understands things, manifests emotions, feels the disposal and the pleasure of life. It changes the way as the person eats and sleeps, and the way he/she feels about himself/herself and thinks on the things. The suicide risk is inherent to the serious depression and can persist until significant remission occurs. Many patients are reluctant in using antidepressant medicines, mainly for these to be associated the adverse effects as inability to drive, dry mouth, constipation, sexual changing among others. That way, the alternative treatments, for example, the medicinal plants have been chosen for many depressive patients. A plant, in particular, is *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae), wide used for the population of the region near Criciúma. The attributed properties to it by this population are to treat depression, rheumatism, pains to articulate and edemas, anti-inflammatory and analgesic and, menstrual pain, combat to the cough and in the treatment of psoriasis. In literature, there is no scientific work investigating the psychopharmacological characteristics of this species. Then, the objective of this work is to evaluate the ant depressive activity of the hydro alcoholic extract of *A. conyzoides* in mice using behavior models. The induction of toxicities by the acute administration of the hydro alcoholic extract through definitive parameters was also investigated. The results gotten in this study show that *A. conyzoides* increased the time of immobility in the test of forced swimming in the 150,0 and 75,0 mg/kg doses, and in the test of suspension of the tail in the dose of 25,0 mg/kg. The extract did not modify the spontaneous locomotive activity and the motor coordination of the animals. But an alteration was observed in the dose of 50,0 mg/kg to the 60 minutes of comment in the test of the route-rod. These results suggest that the extract hydro alcoholic of *A. conyzoides* mainly possess ant depressive property in low doses. However, in the model of acute toxicities the extract revealed toxic on some parameters in all the tested doses, being observed bigger toxicities on female mice. The toxic effects observed can be due to pirrolizidinic alkaloids presence in this species. Other studies are necessary better to evaluate the psychopharmacological properties of *A. conyzoides*, beyond better investigate their toxic effects for the safer using by the population.

Key-words: depression, medical plants, *Ageratum conyzoides* L., toxicity.

LISTA DE ABREVIATURAS

OMS- Organização Mundial de saúde.

DSM-IVR - Manual Diagnostico e Estatístico de Transtornos Mentais.

NA- Noradrenalina.

IMAO- Inibidor da Mono Amino Oxidase.

5-HT- Serotonina.

ISRS- Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina.

NE- Norepinefrina

SNC- Sistema Nervoso Central.

ADT- Antidepressivo Tricíclicos.

ISRSN- Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina e de Noradrenalina.

GABA- Acido Gama Amino Butirico.

NMDA-N-metil-d- Aspartato.

ECT- Terapia eletroconvulsiva

EUA- Estados Unidos da América.

FDA- Food and Drug Administration.

MS- Ministério da Saúde.

CICT- Centro de Informação Científica e Tecnológica.

FIOCRUZ- Fundação Osvaldo Cruz.

CEBRID- Centro Brasileiro de Informação Sobre Drogas Psicotrópicas.

WSF- Water Soluble Fraction.

FEPPS- Fundação Estadual de Pesquisa em Saúde, RS.

GLM- General Lineal Model.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	V
1 INTRODUÇÃO	8
1.1 Transtorno de Depressão	8
1.1.1 Epidemiologia.....	8
1.1.2 Etiologia	9
1.1.3 Comorbidade	11
1.1.4 Tratamento farmacológico.....	12
1.1.5 Depressão refratária.....	13
1.2 Plantas Medicinais e Depressão	14
1.2.1 Utilização de plantas medicinais ao longo dos tempos	15
1.2.2 Pesquisa de novos fármacos a partir de plantas medicinais	17
1.2.3 Plantas medicinais e seus metabólitos	19
1.2.4 Plantas e Toxicidade.....	20
1.2.5 Substâncias tóxicas das plantas	22
1.2.5.1 Alcalóides pirrolizidínicos.....	23
1.3 <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Asteraceae)	25
1.3.1 Características gerais	26
1.3.2 Características botânicas.....	26
1.3.3 Etnofarmacologia.....	27
1.3.3.1 Atividade farmacológica.....	29
Extrato bruto	29
Óleo essencial	30
Metabólitos	31
Bioatividade - Atividade inseticida	32
1.3.4 Fitoquímica.....	32
1.3.4.1 Mono e sesquiterpenos	33
1.3.4.2 Cromenos, benzofuranos e cumarinas	33
1.3.4.3 Flavonóides.....	34
1.3.4.4 Triterpenos e esteróis.....	34
1.3.4.5 Alcalóides e outros compostos	34
1.4 Objetivos.....	36
1.4.1 Objetivo Geral	36
1.4.2 Objetivos Específicos	36
2 MATERIAIS E MÉTODOS	37
2.1 Obtenção da Planta - Amostra	37
2.2 Preparação do Extrato Bruto Hidroalcoólico	37
2.3 Animais.....	37
2.4 Substâncias Utilizadas	38
2.5 Testes Farmacológicos	38
2.5.1 Nado forçado	38
2.5.2 Teste de suspensão pela cauda.....	39
2.5.3 Atividade locomotora espontânea	39
2.5.4 Teste Rota-Rod	39
2.5.5 Análise estatística	40
2.6 Toxicidade Geral Aguda.....	40
2.7 Análise Estatística	41

3	RESULTADOS	42
3.1	Teste do Nado Forçado.....	42
3.2	Teste de Suspensão da Cauda.....	43
3.3	Teste do Rota-Rod.....	44
3.4	Atividade Locomotora Espontânea.....	44
3.5	Toxicidade Aguda.....	45
4	DISCUSSÃO	50
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
	ANEXOS	71
	ANEXO 1 – LISTA DE FIGURAS	72

1 INTRODUÇÃO

1.1 Transtorno de Depressão

A depressão ultrapassa as fronteiras da psiquiatria estando presente na geriatria, neurologia, pediatria e em toda a medicina. Deve ser considerada, verdadeiramente, como doença no sentido estrito do termo pelo sofrimento que provoca e pelas graves conseqüências, tais como: perdas de emprego, suicídio, uso de drogas, etc. A depressão pode afetar o humor, funções vegetativas, funções cognitivas, motricidade e várias outras alterações neurofisiológicas. Em geral, a depressão se caracteriza por sofrimentos de tamanha intensidade que dificilmente podem ser imaginados por quem não os sente. Para o deprimido, o fato da sua dor ser desconhecida torna mais forte a sensação de estranheza e de pena de si mesmo. O paciente percebe um empobrecimento afetivo, a perda do mundo exterior rico e vital (Kapczinski, 2000).

Uma em cada dez pessoas da população, em geral, vai apresentar pelo menos um episódio de depressão na vida. Esse episódio, normalmente, será causado por uma situação infeliz, estresse constante e, às vezes, por doenças. Frequentemente, a depressão é recorrente e crônica afetando globalmente a qualidade de vida dos portadores (Sidney, 2006)

O suicídio, conseqüência mais grave das depressões, tem prevalência média de 17 casos por 100 mil habitantes, sendo uma das mais importantes causas de mortalidade entre pessoas abaixo de 45 anos (JITSCHAK, 2001; YEREVANIAN, 2004). No Brasil, a região sul tem os maiores índices de suicídio. Em primeiro lugar está o Rio Grande do Sul e depois Santa Catarina (Kapczinski, 2000).

1.1.1 Epidemiologia

O transtorno depressivo maior é um transtorno comum, apresentando uma prevalência durante a vida de cerca de 15%, até 32% nas mulheres. Nos homens em torno de 18%. Apresenta alta incidência em pacientes atendidos na clínica geral e em pacientes internados por motivos médicos em torno de 10 a 15%. Quanto ao estado civil, a depressão ocorre mais em pessoas separadas, divorciadas e viúvas, ou ainda quando não existe uma relação estável. Apresenta abrangência cosmopolita, sendo igual para todas as raças, etnias, e não há relação com status econômico ou nível educacional. A depressão é atualmente a quarta causa de incapacidade social no mundo. De acordo com estudos da Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que em 2020, ela passará a ser a segunda maior, perdendo apenas para as doenças coronarianas (LAFER & cols, 2000; KAPLAN et al., 1997; SLATTERY, 2003).

1.1.2 Etiologia

A base causal para os transtornos de humor permanece desconhecida. As muitas tentativas de identificar uma causa biológica ou psicossocial para os transtornos do humor têm sido obstruídas pela heterogeneidade da população de pacientes definida por quaisquer dos sistemas diagnósticos disponíveis e fundamentadas na clínica, incluindo o DSM-IV (FIRST et al., 2004). Os fatores causais podem ser divididos artificialmente em fatores biológicos, genéticos e psicossociais. Esta divisão é arbitrária em razão da probabilidade dos três campos interagirem entre si. Por exemplo, os fatores psicossociais e genéticos podem afetar os fatores biológicos, como alterar as concentrações de determinado neurotransmissor (HEN, 2005; SIMON, 2005). Os fatores biológicos e psicossociais também podem afetar a expressão dos genes, e os fatores biológicos e genéticos a resposta de uma pessoa aos fatores psicossociais (KAPCZINSKI, 2000; SIMON, 2005). Apesar dos contínuos avanços na compreensão dos

efeitos celulares e bioquímicos produzidos por fármacos de ação central, o abismo entre a descrição da ação dos fármacos neste nível e a descrição em nível funcional e comportamental permanece em sua maior parte, muito obscura. (DUMAN, 2004).

Algumas descobertas foram feitas resultando numa melhor compreensão da etiopatologia da doença. A relação entre a noradrenalina (NA) e a serotonina (5-HT) em certas partes do cérebro com os sintomas da depressão está, razoavelmente, compreendida. (BERTON; NESTLER, 2006). A primeira teoria da depressão foi proposta por Schidkhruser em 1965, baseada principalmente nas ações da reserpina e imipramina (SLATTERY, 2003). A teoria das monoaminas, proposta em 1965, sugere que a depressão resulta da deficiência funcional da transmissão monoaminérgica do sistema nervoso central (SNC). A teoria baseava-se na capacidade de fármacos antidepressivos conhecidos (antidepressivos tricíclicos e inibidores da monoamina oxidase) facilitarem a transmissão monoaminérgica e de fármacos que diminuem essa transmissão como a reserpina causarem depressão. Estudos bioquímicos em pacientes deprimidos não sustentam claramente a hipótese das monoaminas na sua forma simples (STAHL, 1998).

Embora a hipótese das monoaminas, em sua forma simples, seja insuficiente como uma explicação da depressão, a manipulação farmacológica da transmissão monoaminérgica permanece a melhor abordagem terapêutica de sucesso. Abordagens atuais enfocam outros mediadores (ex., o hormônio liberador de corticotropina), vias de transdução de sinal, fatores de crescimento entre outras, mas as teorias permanecem imprecisas (SLATTERY, 2003).

As monoaminas do SNC são sintetizadas em pequenos núcleos no tronco cerebral e mesencéfalo e através de vias próprias projetam-se difusamente, principalmente pelo córtex, sistema límbico. Esses neurotransmissores são a noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) e dopamina (DA), responsáveis por efeitos de modulação e integração sobre outras atividades

corticais e subcorticais, estando envolvidos na regulação da atividade psicomotora, apetite, sono e, provavelmente, humor (VASWANI, LINDA, RAMESH, 2003).

Até a década de 70, quando surgiram os primeiros antidepressivos, o único tratamento disponível contra o distúrbio era a psicoterapia. Atualmente existem mais de 60 medicamentos no mercado. As alterações nos níveis de serotonina, dopamina e noradrenalina no cérebro de pacientes deprimidos são restabelecidas pelos antidepressivos. (STAHL, 1998)

Nos últimos anos, a neuroquímica é a área que vem recebendo maior destaque nas pesquisas sobre a fisiopatologia da depressão. Isto teve início a partir do descobrimento do mecanismo de ação dos antidepressivos. Este mecanismo foi estudado inicialmente em relação às alterações agudas sobre os níveis sinápticos dos neurotransmissores na tentativa de se estabelecer hipóteses sobre a fisiopatologia dos transtornos do humor. A partir da observação de que estas hipóteses eram muito limitadas na sua capacidade de explicar a fisiopatologia, foram propostas hipóteses mais complexas, focalizando as alterações em múltiplos sistemas de neurotransmissão e nas adaptações celulares e moleculares aos medicamentos antidepressivos. Os sistemas neuroendócrino e o imunológico parecem ter um papel importante na depressão, mas só recentemente começa a ser desvendado (KRONFOL, 2002). Uma ampla rede de comunicações por meio de terminações nervosas, hormônios, neuropeptídeos e citocinas mantêm os sistemas em equilíbrio, promovendo a integridade do organismo. Esses sistemas compartilham a propriedade de produzirem grande parte destas substâncias e também de serem modulados por elas (KAPCZINSKI, 2000; ELIYAHU, 2004).

1.1.3 Comorbidade

A comorbidade é considerada, em termos gerais, como a presença de duas ou mais enfermidades de patofisiologias distintas no mesmo indivíduo; na psiquiatria, a comorbidade,

segundo Maser e Dinges (1993), é “a presença de um antecedente ou síndrome psiquiátrica concorrente que se soma ao diagnóstico principal” e que deve estar presente como episódio com expressão completa. Comorbidade é comum no primeiro episódio de psicoses, mas quando antecedentes podem representar um fator de risco para os transtornos psicóticos (STRAKOWSKI et al., 1995). Estudos mostram que 79% dos pacientes apresentavam comorbidade psiquiátrica, sendo que em somente 21% verificou-se a ocorrência de um transtorno mental isolado (KESSLER et al. 1994). Estudos atuais indicam que a maioria dos pacientes que sofrem de transtorno Depressivo Maior também apresentam um transtorno de ansiedade (ZIMMERMAN et al., 2000).

Anormalidades genéticas e metabólicas também têm sido observadas em estudos de neuroimagem, que mostram prováveis superposições fisiopatológicas entre a depressão maior e os transtornos de ansiedade. Os fármacos habitualmente usadas para tratar os sintomas desses transtornos são os antidepressivos e os ansiolíticos. A combinação de psicoterapias e farmacoterapias também pode ser benéfica. Estudos de imagem em humanos poderão esclarecer as regiões cerebrais envolvidas na depressão maior e nos transtornos de ansiedade, e os critérios diagnósticos para a delimitação da depressão e da ansiedade comórbidas (KELLER, 2005; KRYSTAL, 2005; HEN, 2005)

1.1.4 Tratamento farmacológico

O tratamento é feito, dependendo do grau da depressão, com o auxílio de medicamentos e psicoterapia (GORMAN, 2006).

Os principais fármacos antidepressivos são:

- Antidepressivos Tricíclicos (TCA), por exemplo; imipramina, amitriptilina: estes são inibidores não-seletivos da captação das monoaminas;

- Inibidores seletivos da captação de serotonina (ISRS), por exemplo: fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, sertralina;
- Inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina (IRSN), como a velafaxina;
- Inibidores da monoamino oxidase (IMAO), por exemplo: fenelzina, tranilcipromina, que são não seletivos em relação aos subtipos A e B da MAO e moclobemida, que é seletivo para MAO-A (RANG et al, 2004).

Todas as classes de medicamentos citados possuem efeitos indesejáveis. Os TCAs causam sedação, confusão e falta de coordenação motora. Os ISRS causam náusea, anorexia, insônia, perda da libido e alterações na fase orgasmica. Os IMAOs resultam em hipotensão, tremores, excitação, insônia, boca seca, visão turva, entre outros (RANG et al, 2004).

Existem pacientes que não respondem a nenhum desses tratamentos farmacológicos, sendo definidos como pacientes refratários. Nesses casos, podem ser encaminhados para a eletroconvulsoterapia (ECT). Além de pacientes refratários, a ECT também é escolhida como tratamento de primeira escolha em pacientes com ideações suicidas refratárias a outros tratamentos e naqueles fisicamente comprometidos, assim como em gestantes (SHANSIS, 2001).

O risco de suicídio é inerente à depressão grave e pode persistir até que ocorra remissão significativa. Há relatos de que os antidepressivos, em raras ocasiões, exacerbam tendências suicidas (BALLONE, 2003).

Considerando os efeitos indesejáveis, pacientes refratários e o risco de suicídio, faz-se necessária a pesquisa de novos compostos para o tratamento dessa desordem.

1.1.5 Depressão refratária

Cerca de 30% dos pacientes deprimidos mostram-se refratários, parcial ou totalmente, ao tratamento. A depressão refratária é tida como um quadro depressivo que não responde a tratamento antidepressivo farmacológico supostamente eficaz (GORMAN, 2006)

Diversos fatores podem provocar esta refratariedade, como: o uso incorreto da medicação, sensibilidade individual, comorbidade e tolerância. A maioria dos pacientes com doença depressiva será controlada com sucesso com os tratamentos convencionais e conseguirão a remissão ou uma resposta clínica substancial. Entretanto, entre 10 e 30% dos pacientes não conseguirão a remissão durante um episódio particular, e, aproximadamente, 12% dos pacientes experimentarão sintomas crônicos e persistentes apesar do tratamento (Nemeroff; Owens, 2002).

1.2 Plantas Medicinais e Depressão

Ao longo da história da civilização, a utilização de plantas medicinais teve grande importância para o tratamento de várias doenças, incluindo distúrbios mentais. Dentre esses distúrbios, a depressão sempre teve grande incidência, sendo chamada muitas vezes de angústia, tristeza profunda e desespero.

A grande diversidade de estudos sobre a propriedade antidepressiva de plantas foi impulsionada pela baixa taxa de resposta aos fármacos antidepressivos e alta taxa de remissão. Além disso, esses fármacos são responsáveis por uma grande quantidade de efeitos adversos que interferem na qualidade de vida dos pacientes (KIM et al., 2005).

Muitas são as plantas utilizadas para o tratamento da depressão. Entre elas as espécies *Hypericum perforatum* L., *Panax ginseng* C.A Mey., *Ginkgo biloba* L., *Ephedra sinica* Stapf, *Paullinia cupana var sorbilis* (Mart.) Ducke (CARLINI, 2003). Na China, a planta conhecida

como Ma Huang, a *Efedra spp.* tem sido utilizada há muitos séculos, sendo identificados os compostos efedrina e pseudoefedrina, substâncias do tipo feniletilamina que possuem efeito estimulante do SNC semelhante à anfetamina (GLENNON; YOUNG, 2000). A efedrina atua centralmente promovendo a liberação e inibição da recaptação de noradrenalina (CARLINI, 2003).

Muitas propriedades são atribuídas à famosa planta brasileira conhecida popularmente como guaraná, *Paullinia cupana var sorbilis* (Mart.) Ducke, que é considerada estimulante. Administrada cronicamente demonstrou diminuir o tempo de imobilidade no teste do nado forçado em camundongos, além de melhorar a atividade cognitiva (ESPÍNOLA et al., 1997). *Hypericum perforatum* L., planta sabidamente com propriedade antidepressiva, é largamente utilizada, sendo denominada popularmente de “erva de São João” (SHULZ, 2002). Vários estudos têm demonstrado que a erva de São João alivia os sintomas de depressão branda a moderada, oferecendo vantagens sobre os fármacos antidepressivos por estar associada a poucas reações adversas (DI CARLO et al., 2001).

Na medicina Chinesa, extremamente rica em plantas para o tratamento de diversos males, encontra-se ainda o uso popular e pesquisas a respeito das espécies *Polygala japonica* HOUTT. (Polygalaceae) (LI et al., 2006), *Morinda officinalis* How (Rubiaceae) (ZHANG et al., 2002) e um preparado denominado de Chaihu-Shugan-San, constituído de várias espécies vegetais (*Radix bupleuri*), *Aurantii nobilis Pericarpium*, *Rhizoma cnidii*, *Rhizoma cyperi*, *Radix paeoniae*, *Poncirus trifoliata Rafinesque*, e *Radix glycyrrhizae*) (KIM et al., 2005).

1.2.1 Utilização de plantas medicinais ao longo dos tempos

A primeira forma de uso de medicamentos efetuada pelo homem foi feita mediante o consumo de plantas medicinais, que, desde os primórdios, são fundamentais tanto na alimentação quanto na cura de enfermidades. Talvez muitas descobertas tenham sido feitas durante a procura de novas fontes de alimento, mas provavelmente um número significativo foi devido à curiosidade e ao desejo natural de investigação de todo ser humano (NIERO et al., 2003). No entanto, ao procurar plantas para seu sustento, foram sendo descobertas espécies com ação tóxica ou medicinal, dando início à sistematização empírica das plantas de acordo com o uso que se podia fazer delas (SIMÕES et al., 2003; NIERO et al., 2003).

O acúmulo de conhecimentos empíricos sobre a ação dos vegetais vem sendo transmitido desde as antigas civilizações até os dias atuais. Todavia, nos últimos anos as plantas medicinais estão sendo utilizadas intensamente no meio urbano, como forma alternativa ou complementar da medicina oficial. Alguns fatores têm contribuído para o aumento da utilização de tal recurso, tais como: a crise financeira, o alto custo de medicamentos industrializados e o difícil acesso da população à assistência médica (DORIGONI et al., 2001).

No Brasil, a utilização de plantas para fins terapêuticos foi sendo difundida através das diferentes culturas que se estabeleceram após sua descoberta. Os primeiros europeus que chegaram ao Brasil depararam-se com uma grande quantidade de plantas medicinais em uso pelas inúmeras tribos que aqui viviam. Os novos conhecimentos sobre a flora local acabaram sendo acumulados àqueles trazidos da Europa (LORENZI; MATOS, 2002; SOERJATO, 1996).

Entre o uso primitivo e mágico das plantas pelos curandeiros até o conhecimento atual, existem diferenças difíceis de serem mensuradas. Porém, a partir do momento em que as plantas passaram a ser utilizadas fora do seu contexto original, tornou-se necessária à avaliação de sua qualidade, eficácia e segurança (MENGUE et al., 2001).

Até o último século, a maioria dos medicamentos era derivada diretamente de plantas ou fontes animais. Apesar do uso freqüente de drogas sintéticas, produtos orgânicos naturais persistiram como “tratamentos de primeira escolha” para vários problemas de saúde em populações ao longo do mundo (HALBERSTEIN, 2005).

1.2.2 Pesquisa de novos fármacos a partir de plantas medicinais

A necessidade de desenvolvimento de novos fármacos eficazes contra algumas patologias, ainda sem tratamento adequado, que possam substituir os existentes com custos menores e menos efeitos colaterais tem impulsionado a comunidade científica a novas e incessantes pesquisas nesta área (NIERO et al., 2003). Quando se procura obter substâncias ativas de plantas, um dos principais aspectos a serem observados consiste nas informações da medicina popular. Houghton e Raman (1998 apud YUNES; CALIXTO, 2001) afirmam que é muito mais provável encontrar atividade biológica em plantas orientadas pelo seu uso popular do que em plantas escolhidas ao acaso.

Nas últimas décadas, devido ao avanço da química combinatória, pesquisas com produtos naturais entraram em declínio na indústria farmacêutica. Porém, evidências recentes de companhias farmacêuticas mostram que para algumas doenças complexas, produtos naturais ainda representam uma fonte extremamente valiosa para a produção de novas entidades químicas (CALIXTO, 2005).

De acordo com Nisbet e Moore (1997 apud SIMÕES et al., 2003), ao se considerar a perspectiva de obtenção de novos fármacos, um aspecto essencial distingue os produtos de origem natural dos sintéticos: a diversidade molecular. A diversidade molecular dos produtos

naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese, que, apesar dos avanços consideráveis, ainda é limitada.

O uso dos produtos naturais, especialmente das plantas superiores, pelas indústrias farmacêuticas está direcionado, principalmente, para a seleção de protótipos em desenho de novos medicamentos, ou mesmo para o desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos padronizados (YUNES; CALIXTO, 2001). Nos EUA, no período de 1983 a 1994, dos 520 fármacos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA), 157 (30%) eram produtos naturais ou seus derivados (SIMÕES et al., 2003).

De acordo com Garcia et al. (1996 apud SIMÕES et al., 2003), no Brasil, em 1996, estimava-se que 25% dos 8 bilhões de dólares do faturamento da indústria farmacêutica nacional foram oriundos de medicamentos derivados de plantas. Neste aspecto, apenas 8% das espécies vegetais da flora brasileira foi estudada em busca de compostos bioativos e 1.100 espécies vegetais foram avaliadas em suas propriedades medicinais. Destas, 590 plantas foram registradas no Ministério da Saúde para comercialização. O panorama brasileiro nessa área mostra que 84% de todos os fármacos são importados e que 78% da produção brasileira é feita por empresas multinacionais (BERMUDEZ, 1995). Isso revela a necessidade de se buscar alternativas para superar a dependência externa, principalmente quando se confrontam os altos preços praticados no Brasil em comparação com aqueles praticados nos países desenvolvidos.

Atualmente, entre 25-30% dos fármacos são derivados de produtos naturais, principalmente de plantas superiores. Desde muito tempo, produtos naturais originados de plantas têm sido constantemente uma fonte importante de agentes terapêuticos (CALIXTO, 2005; YUNES; CALIXTO, 2001).

1.2.3 Plantas medicinais e seus metabólitos

A magnitude da biodiversidade brasileira não é conhecida com precisão, tal a sua complexidade, estimando-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, animais e microorganismos. É o país com maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 mil espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (DIAS, 1996 apud SIMÕES et al., 2003).

A diversidade molecular, um fator importante para a procura de novas moléculas em plantas, significa também, diferentes propriedades físico-químicas. Isto representa um desafio para o químico que pretende isolar e determinar a estrutura de compostos ativos, uma vez que o extrato de determinada planta pode conter centenas ou milhares de compostos (HAMBURGER; HOSTETTMANN, 1999).

As plantas possuem em sua composição algumas substâncias denominadas metabólitos, e estas podem ser divididas em dois grupos distintos: metabólitos primários e secundários. Os primários (lipídeos, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos) são essenciais à vida e ao desenvolvimento das plantas, sendo fornecedores de matéria-prima e de energia para a formação dos metabólitos secundários, como: taninos, alcalóides, flavonóides, glicosídeos cianogênicos dentre outros (NIERO, 2003; SIMÕES et al., 2003).

Durante muito tempo os metabólitos secundários foram considerados como produtos de excreção do vegetal, com estruturas químicas e, algumas vezes, propriedades biológicas interessantes. Atualmente, sabe-se que muitas destas substâncias estão diretamente envolvidas nos mecanismos que permitem a adequação da planta ao seu meio (SIMÕES et al., 2003).

Segundo Rhodes (1994 apud SIMÕES et al., 2003), o aparecimento destes compostos é determinado por necessidades ecológicas (limitações nutricionais, defesa contra herbívoros e microorganismos, proteção contra raios UV, atração de polinizadores) e possibilidades

biossintéticas, tanto em relação ao número de substâncias produzidas quanto à sua diversidade numa mesma espécie.

É de grande importância e interesse terapêutico conhecer os principais grupos de metabólitos secundários com seus respectivos métodos de extração, para que se possa isolar, identificar e dosar os mesmos. Embora uma planta possa conter centenas de metabólitos secundários, apenas os compostos presentes em maior concentração são geralmente isolados e estudados pela fitoquímica clássica. Porém, normalmente, os compostos presentes em menor proporção na planta são os que apresentam melhores efeitos terapêuticos (YUNES; CALIXTO, 2001).

É válido ressaltar que substâncias em princípio consideradas terapêuticas também podem causar efeitos indesejados ou tóxicos, sendo imprescindível à realização de estudos toxicológicos desses compostos.

1.2.4 Plantas e Toxicidade

São definidas como tóxicas aquelas plantas que possuem algum tipo de efeito lesivo ou substância nociva, causando distúrbios ao organismo do homem ou de animais, pelo contato ou ingestão (ANDRADE FILHO et al., 2001).

A flora brasileira apresenta um número grande e variado de espécies potencialmente lesivas ao ser humano. A planta medicinal utilizada em medicamento é um xenobiótico(como todos os fármacos sintéticos ou naturais), isto é, um produto estranho ao organismo humano, nele introduzido com finalidades terapêuticas,. Como toda substância estranha, os produtos de sua biotransformação são potencialmente tóxicos e, assim, devem ser encarados até que se prove o contrário (SCHVARTSMAN, 1991; SIMÕES et al., 2003).

Assim como acontece com todas as formas de automedicação, o uso de fitofármacos representa um risco potencial para saúde do ser humano. A segurança destes é especialmente importante, pois na maioria das vezes esses produtos não são prescritos por um profissional e são usados para tratamento de diversas afecções. (NEWALL et al., 2002).

O uso tradicional de plantas com finalidades terapêuticas permitiu que os medicamentos com sinais agudos e aparentes de toxicidade sejam bastante reconhecidos e evitados. Entretanto, a premissa de que o uso de uma planta por centenas de anos estabelece a sua segurança não é necessariamente verdadeira. As formas mais sutis e crônicas de toxicidade, como carcinogenicidade, mutagenicidade e hepatotoxicidade, podem muito bem ter passado despercebida pelas gerações anteriores, e esses tipos de toxicidade são os que mais preocupam na avaliação da segurança dos fitofármacos (NEWALL et al., 2002).

É de se ressaltar que muitas plantas são completamente desconhecidas quanto ao potencial toxicológico. Porém, existem plantas que são fontes freqüentes de intoxicações, ou por serem utilizadas doses altamente concentradas, ou pela forma como é utilizada (MENGUE et al., 2001).

Um exemplo de planta é o confrei – *Symphytum officinale* L. (Boraginaceae)– o qual era utilizado internamente como antimitótico para tratamento do câncer, até descobrir-se a presença de alcalóides pirrolizidínicos que são potencialmente hepatotóxicos, carcinogênicos e teratogênicos (NEWALL et al., 2002). Considerando as evidências de toxicidade, em 1992, o Ministério da Saúde (MS), proibiu o seu uso em produtos fitoterápicos de uso interno, restringindo a indicação ao uso externo, de aplicação tópica (MENGUE et al., 2001).

A Estatística Anual de Casos de Intoxicação e Envenenamento, elaborada pelo Centro de Informação Científica e Tecnológica (CICT) da Fundação Osvaldo Cruz (FIOCRUZ), demonstra que os casos de intoxicações por plantas ocupam o 8º e o 10º lugar nos “rankings” dos 12 agentes causadores de intoxicações. De acordo com o Centro Brasileiro de

Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID), o número de casos de intoxicação por plantas entre 1995 a 2001 variou de 1.200 a 1.700 por ano. Portanto, o uso popular, e mesmo o tradicional, não são suficientes para validar eticamente as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros, pois o fato de uma planta ser totalmente natural não significa que não possa causar graves problemas a saúde de quem as utiliza. Do ponto de vista toxicológico, deve-se considerar que uma planta medicinal ou um fitoterápico não tem somente efeitos imediatos e facilmente relacionados com a sua ingestão, mas lembrar, principalmente, os efeitos que se instalam em longo prazo e de forma assintomática (FETROW, 2000; SIMÕES et al., 2003).

1.2.5 Substâncias tóxicas das plantas

O surgimento do conceito “natural”, em muito contribuiu para o aumento do uso das plantas medicinais nas últimas décadas. Para muitas pessoas esta definição significa a “ausência de substâncias químicas” que possam causar toxicidade. Esta idéia é extremamente equivocada, já que as plantas foram e são fornecedoras dos grandes venenos da história da humanidade (MENGUE et al., 2001; SIMÕES et al., 2003).

Muitas espécies de vegetais superiores produzem substâncias capazes de exercer ação extremamente tóxica sobre o organismo vivo. Exemplo dessas substâncias são os alcalóides beladonados, alcalóides pirrolizidínicos, alcalóides cumarínicos, glicosídeos cianogênicos (HCN), glicosídeos cardiotoxicos, oxalato de cálcio, proteínas tóxicas (toxicoalbuminas), saponinas, resinas (álcoois, ácidos e fenóis), dentre outros (ANDRADE FILHO et al., 2001; SIMÕES et al., 2003).

Neste sentido, as plantas não se diferenciam de qualquer outro xenobiótico sintético, e a autorização oficial de seu uso medicamentoso deve ser fundamentada em evidências experimentais comprobatórias de que o risco a que se expõem os usuários seja suplantado pelos benefícios que possam advir (SIMÕES et al., 2003).

1.2.5.1 Alcalóides pirrolizidínicos

A maior parte dos alcalóides pirrolizidínicos são ésteres de 1-hidroximetilpirrolizidinas freqüentemente hidroxiladas em diversas posições do núcleo estrutural, sendo o carbono da posição C-7 a mais recorrente. O núcleo básico de aminoálcool recebe o nome de necina, e a porção ácida é conhecida como ácido néxico (Figura 1) (SIMÕES et al., 2003).

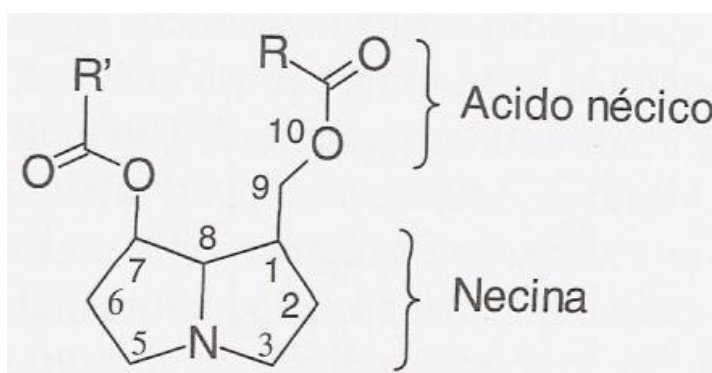


Figura 1 Estrutura química dos Alcalóides Pirroizidínicos
Fonte: SIMÕES et al. (2003).

A insaturação do núcleo básico representa uma característica estrutural de várias das necinas, e, ao mesmo tempo, constitui um requerimento estrutural para a toxicidade deste tipo de alcalóide. Com base na sua estrutura, os alcalóides pirrolizidínicos podem ser divididos em

duas categorias: os que possuem núcleo insaturado (tóxicos) e os que possuem núcleo saturado (atóxicos) (NEWALL et al., 2002; SIMÕES et al., 2003).

Os alcalóides pirrolizidínicos são um grupo típico de compostos secundários, produzidos por várias espécies de plantas, como uma defesa contra insetos herbívoros e predadores. A ocorrência dessas substâncias é restrita às angiospermas, sendo que mais de 95%, de 400 estruturas conhecidas, são encontradas em plantas da família Asteraceae, e algumas na Boraginaceae, Apocynaceae e Fabaceae (ANKE et al., 2004; JI et al., 2005).

O aspecto mais importante das espécies vegetais que sintetizam alcalóides pirrolizidínicos está associado com a alta toxicidade demonstrada por estes metabólitos. Por seu amplo espectro de atividade biológica, esses alcalóides são considerados como a classe de toxinas de origem vegetal mais importante que tem alterado a saúde do homem e dos animais. Essa toxicidade tem proporções pandêmicas e, por essa razão, tem sido objeto de atenção por parte de organismos regionais e internacionais, como a União Européia, e mundiais, como a Organização Mundial de Saúde (OMS) (SIMÕES et al., 2003).

A investigação química e farmacológica dos alcalóides pirrolizidínicos começou precisamente como consequência da aparição e persistência da enfermidade chamada “enfermidade do senecio”, a qual é causada pelo consumo de plantas que sintetizam pirrolizidinas, em particular as espécies pertencentes ao gênero *Senecio* (Asteraceae). Essa toxicidade se manifesta principalmente como efeitos hepatotóxicos, porém tem-se estabelecido seus efeitos citotóxicos, mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos. A toxicidade aguda resulta em necrose hepática, ao passo que a toxicidade crônica geralmente resulta em doença venoclusiva caracterizada pela presença de células hepáticas bastante aumentadas. O diagnóstico de doença venoclusiva num bebê recém-nascido, que veio a falecer, salienta a suscetibilidade do feto à toxicidade dos alcalóides pirrolizidínicos. Neste caso, a mãe havia tomado um chá de ervas como expectorante, sendo que sua análise revelou

a presença de alcalóides pirrolizidínicos (NEWALL et al., 2002; SIMÕES et al., 2003).

A hepatotoxicidade, que pode se manifestar como falência hepática aguda ou cirrose, associada ao consumo de determinadas plantas é atribuída a esses compostos. Além disso, são potencialmente tóxicos aos pulmões, podendo causar hipertensão pulmonar. De acordo com estudos experimentais, uma certa quantidade de alcalóides pirrolizidínicos em um pouco de chá é suficiente para produzir carcinogenicidade em indivíduos expostos (ALTAMIRANO et al., 2005; NEWALL et al., 2002; XIA et al., 2006).

Segundo Yunes et al. (2001), experimentos realizados em animais têm revelado a estreita relação existente entre a citotoxicidade dos alcalóides pirrolizidínicos e seu metabolismo. Tem-se demonstrado que a toxicidade se deve aos metabólitos e não aos próprios alcalóides isolados das fontes naturais. Nos mamíferos, esses compostos se metabolizam no fígado, e, como consequência, este órgão é sumamente danificado, independente da via de administração (SIMÕES et al., 2003).

No organismo, os alcalóides pirrolizidínicos seguem diversas vias de metabolismo ou disponibilidade e seus efeitos biológicos dependem do balanço de cada uma delas. As principais rotas metabólicas consistem na hidrólise enzimática dos ésteres, conversão dos alcalóides pirrolizidínicos em seus correspondentes N-óxidos e a desidrogenação para formar derivados pirrólicos (dihidropirrolizinas) (SIMÕES et al., 2003).

De acordo com Anonymus (1988 apud SIMÕES et al., 2003), a OMS; que recomenda aos países em desenvolvimento, a identificação, avaliação, utilização e conservação de plantas medicinais nativas; emitiu um alerta sobre os efeitos danosos de algumas plantas, através da publicação, em 1988, de uma lista contendo 248 espécies medicinais pertencentes a mais de 40 diferentes gêneros, 60 das quais sintetizam alcalóides pirrolizidínicos.

1.3 *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae)

1.3.1 Características gerais

Ageratum conyzoides deriva do grego “a geras”, que significa não-envelhecimento, referindo-se a longevidade da planta inteira, e de “konyz”, nome grego de *Inula helenium*, a qual a planta se assemelha (OKUNADE, 2002). *A. conyzoides* é uma planta tropical muito comum na África Ocidental, algumas partes da Ásia, América do Sul e América Central, com longa história de usos medicinais tradicionais em muitos países no mundo. (LORENZI; MATOS, 2002; OKUNADE, 2002; XUAN, 2004).

É considerada uma erva anual cosmopolita tropical, invasora de culturas e áreas não cultivadas, muito comuns nas áreas do nordeste do Brasil, especialmente de serras. Tem odor peculiar, onde, na Austrália, comparou-se ao odor de bode, daí o nome popular de catinga-de-bode, dentre outros, como: mentrasto, maria-preta, picão-branco; picão-roxo, erva-de-são-joão, erva-de-são-josé, erva-de-santa-lúcia (LORENZI; MATOS, 2002; OKUNADE, 2002).

Ageratum conyzoides também possui vários atributos mágicos e supersticiosos, como por exemplo: se a seiva for derramada na mão de um acusado e este, após uma picada com uma agulha sentir dor, é porque ele é culpado. Na Costa do Marfim é utilizada na Seita da Serpente contra picada de cobra; na parte ocidental da Nigéria, é usada em encantamentos para acalmar bruxas e matar “maus remédios” com a força de seu cheiro. No Congo, a seiva da folha é passada nas mãos de jogadores, por acreditarem trazer sorte (BURKILL, 1985; OKUNADE, 2002).

1.3.2 Características botânicas

Ageratum conyzoides pertence à família Asteraceae, cujas características são bem marcantes. O gênero *Ageratum* possui aproximadamente 30 espécies, mas somente poucas têm sido estudadas fitoquimicamente (OKUNADE, 2002). É uma planta herbácea anual, ereta, pilosa e aromática com até 1 m de altura. O caule (talos) e folhas são cobertos com pêlos brancos, sendo que as folhas são opostas, longo-pecioladas, ovóides e ásperas, com até 7,5 cm de comprimento. Possuem inflorescência tipo capítulo com cerca de 30-50 flores de cor lilás a branca. Fruto aquênio, muito pequeno, preto e anemocórico, sendo facilmente espalhados; as sementes são fotoblásticas e perdem sua viabilidade para germinação dentro de 12 meses (Figura 2) (LORENZI; MATOS, 2002; OKUNADE, 2002).

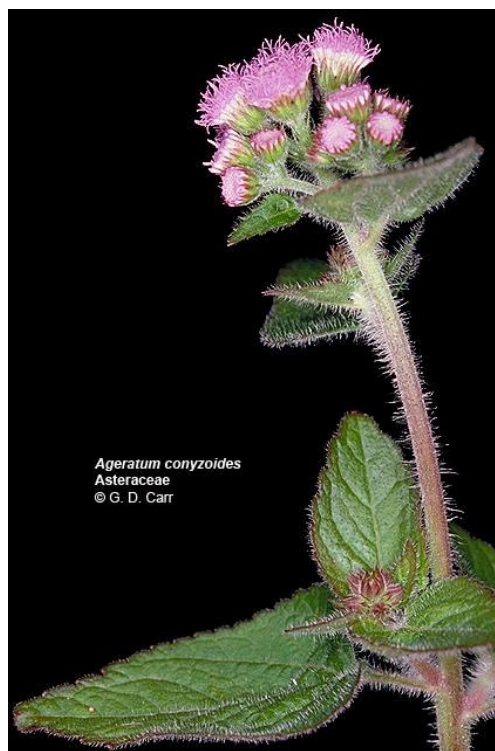


Figura 2 *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae)

Fonte: Disponível em: <http://www.botany.hawaii.edu>

1.3.3 Etnofarmacologia

Ageratum conyzoides tem sido utilizada em várias partes da África, Ásia e América do Sul, por ter efeitos terapêuticos diversos. Githen (apud OKUNADE, 2002), em sua revisão, listou o uso desta planta como remédio popular de ação purgativa, antitérmica, para tratamento de oftalmia, cólicas, úlceras e feridas. As propriedades antialérgica e antipirética da planta também foram indicadas em uma revisão: “Plantas Medicinais O Senegal”. Em alguns países da África, a planta tem sido indicada para o tratamento de doenças mentais e infecciosas, como também cefaléia e dispnéia (OKUNADE, 2002).

Em Camarões, o extrato aquoso obtido pela maceração das folhas é utilizado como emético, e também é aplicado intravaginalmente para cólicas menstruais. São usadas no tratamento de pneumonia, esfregando-se a planta no peito do paciente (LORENZI; MATOS, 2002; OKUNADE, 2002). Além do seu uso popular no tratamento de doenças de pele e feridas na Nigéria, a decocção da planta é usada internamente para o tratamento de diarreia em crianças. Na África Central *A. conyzoides* é usada particularmente em feridas causadas por queimaduras, enquanto que no Kenia (África Oriental), é usada na medicina tradicional como antiasmática, antiespasmódica e hemostática. Na Índia, é utilizada no tratamento da hanseníase, e a loção do seu óleo para oftalmia purulenta. Na medicina popular brasileira, chás são usados como antiinflamatório, analgésico e anti-diarreico, e no Vietnã a planta é particularmente usada para o tratamento de doenças ginecológicas (OKUNADE, 2002). Esta espécie também é utilizada para prurido, distúrbios do sono, higiene bucal, dor de dente, como antireumática, antitussígena, vermífuga e tônica. Atividade nematocida também tem sido reportada (OKUNADE, 2002).

Na região de Criciúma, a espécie *A. conyzoides* é largamente utilizada, sendo destacadas as propriedades analgésica e antiinflamatória. É utilizada também no combate a cólicas menstruais. Entretanto, propriedades antidepressivas e ansiolíticas são as que mais chamam a atenção, pois uma grande parte dos usuários crê que o chá das folhas dessa planta

melhora o humor e a tristeza, proporcionando um efeito estimulante (ESCOBAR et al., 2007, submetido). Dessa forma, o estudo sobre a atividade antidepressiva de *A. conyzoides* se justifica uma vez que não é encontrada nenhuma referência a esse respeito na literatura.

1.3.3.1 Atividade farmacológica

Extrato bruto

O extrato bruto da planta inteira mostrou ter atividade bloqueadora neuromuscular em nervo-diafragma isolado de ratos e também causou maior queda de pressão diastólica comparada com a pressão sistólica. Possui também atividade bloqueadora de canais de cálcio, semelhante ao Verapamil que é um inibidor da entrada de íons cálcio através das membranas celulares do músculo liso cardíaco e vascular, dilatando as artérias coronárias, artérias e arteríolas periféricas e reduzindo a frequência e contractilidade cardíaca. O extrato da folha foi usado no tratamento de dor crônica em pacientes com osteoartrite (OKUNADE, 2002).

O extrato metanólico da planta inteira apresenta atividade antimicrobiana, principalmente contra *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. (OKUNADE, 2002; XUAN, 2004).

O extrato etanólico de *A. conyzoides* nas doses de 500 e 750 mg/kg tem exibido gastroproteção marcante em modelos animais, enquanto que o extrato hidroalcolico, na dose de 250 mg/kg, tem demonstrado efeito antiinflamatório atribuído à capacidade de inibir seletivamente a COX-2 (ciclooxigenase), enzima responsável pelo processo inflamatório (MOURA et al., 2005; SHIRWAIKAR et al., 2003).

O extrato obtido das folhas da planta alterou o eletrocardiograma, a velocidade de impulso atrial e a resistência coronariana em corações de porcos. Também proporcionou

atividade analgésica. O extrato da folha de *A. conyzoides*, também, foi detectada, diminuindo a atividade motora espontânea e causando uma queda de temperatura retal. Em receptor *in vitro*, observou-se sua seletividade a um único receptor opióide implicado na mediação da dor (GARCIA; CARVALHO, 1999; OKUNADE, 2002).

A fração solúvel em água (WSF – *water soluble fraction*) do extrato da planta possui atividade analgésica periférica e ação antiinflamatória. Tem demonstrado ser um potente e não-específico bloqueador da contração muscular lisa, também possuindo atividade miorrelaxante. Margort e Silva, Capaz e Vale (2000), investigando o efeito da WSF na musculatura lisa (usando útero e músculo liso do intestino isolado de ratos), concluíram que essa fração possui substâncias que provocam efeitos relaxantes no músculo liso e inibem a contração induzida por diversos agonistas por bloquear a entrada de cálcio e/ou inibir AMP cíclico. Essas características farmacológicas poderiam explicar o uso popular de *Ageratum conyzoides* para o alívio de dores abdominais e cólicas menstruais. Tentativas clínicas com pacientes com artrose foram conduzidas com o extrato aquoso da planta inteira, e os resultados mostraram efeitos analgésicos em 66% dos pacientes e a melhoria da mobilidade da articulação em 24%, sem efeitos colaterais. Ação anticoagulante foi demonstrada através do extrato aquoso (SILVA, 2000; OKUNADE, 2002).

Óleo essencial

O óleo essencial de *A. conyzoides* tem sido testado como anti-inflamatório, analgésico e antipirético em camundongos e ratos. Nas doses de 3 e 4ml/kg o óleo mostrou ter significativa atividade anti-inflamatória. Na dose de 3ml/kg efeito antipirético foi comparável com um composto de referência (acetil salicilato 50 mg/kg), considerando que atividade

analgésica foi mostrada nas doses de 2, 3 e 4ml/kg. A administração diária por 7 dias não mostrou toxicidade gástrica (OKUNADE, 2002).

A atividade antimicrobiana do óleo foi sujeita a investigação. As propriedades antibacteriana e antifúngica contra 22 bactérias e 12 fungos, mostraram que o óleo inibiu 20 bactérias e 4 fungos (*Candida albicans* SP-14, *Cryptococcus neoformas* SP-16, *Sclerolium rolfsii* SP-5 e *Trichophyton mentagrophytes* SP-12) (OKUNADE, 2002).

Metabólitos

Atividades farmacológicas dos mais importantes metabólitos, além do óleo essencial desta planta, responsáveis por propriedades medicinais têm sido identificadas. Existe, entretanto, um amplo espectro de atividades farmacológicas a partir das classes dos compostos obtidos desta planta. Por exemplo, simples cromenos e cromanos, especialmente os derivados 6-amino e 6-acetamido foram avaliados como tendo propriedade antidepressiva, analgésica e antipirética. Alguns deles têm atividade contra cestódeos da ordem dos trematódeos. Outros cromenos simples, como os derivados 6-(1-hidroxietil)-7,8-dimetoxi-2,2dimetilcromeno e 6-hidroxi-7,8-dimetoxi-2,2 dimetilcromeno, têm mostrado atividades antimicrobianas (OKUNADE, 2002).

Os esteróis, especialmente o stigmasterol, mostraram atividade antiinflamatória. Os flavonóides possuem uma gama extensiva de atividades biológicas. A lista inclui efeitos no sistema vascular central, propriedades diuréticas, espasmolítica, antiviral e antiinflamatória.

Embora as atividades biológicas dos flavonóides de *A. conyzoides* não foram bem investigadas, é importante destacar quatro polimetoxiflavonas isoladas de sucos cítricos que têm se mostrado importantes candidatos para prevenção de câncer. Duas dessas polimetoxiflavonas são as mesmas isoladas de *A. conyzoides* (OKUNADE, 2002).

Bioatividade - Atividade inseticida

Em seu uso na agricultura, a propriedade mais importante é a atividade inseticida. A maioria dos constituintes do óleo essencial tem produzido metamorfose em larvas de insetos. Alguns constituintes mostraram atividade inseticida de quarta-geração e têm sido a causa de hepatotoxicidade em ratos. Este é um importante fator devido à periculosidade aos humanos expostos a estes inseticidas (OKUNADE, 2002).

Estudos de controle de peste mostram que o extrato da planta induz anormalidades morfológicas na formação de larvas dos mosquitos *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* e *Anopheles stephensis*. Este fato é significativo e chama atenção para estudos mais detalhados, principalmente porque a planta é muito prevalente nos trópicos. Estudos adicionais no controle de vetores em saúde pública podem servir como meio de controle dos mosquitos *Anopheles*, *Aedes* e *Culex* prevenindo perdas humanas e econômicas causadas pela malária, dengue e filariose (OKUNADE, 2002).

1.3.4 Fitoquímica

Uma gama extensiva de constituintes químicos tem sido isolada da espécie *A. conyzoides*, pois a maior porcentagem das publicações fitoquímicas tem sido feita com o óleo essencial desta planta. As folhas contêm 0,2% de óleo essencial rico em beta-cariofileno, ao passo que as sementes fornecem 14% de óleo fixo que contém ácidos graxos livres, mono, di e triglicerídeos, ceras e hidrocarbonetos (LORENZI; MATOS, 2002; OKUNADE, 2002).

A composição química também mostra a presença de alcalóides pirrolozidínicos, cumarinas, flavonóides e outros (LORENZI; MATOS, 2002; MOURA et al., 2005; OKUNADE, 2002).

1.3.4.1 Mono e sesquiterpenos

Um grande número de constituintes tem sido identificado em análises do óleo essencial de *A. conyzoides*. Um total de 51 constituintes foram relatados pela análise de uma amostra de óleo da planta, coletada em um ambiente universitário da Nigéria. Os compostos identificados incluem 20 monoterpenos (6,4%) e 20 sesquiterpenos (5,1%). Os monos e sesquiterpenos são obtidos em quantidades mínimas (cerca de 0,1%). Os monoterpenos obtidos em aproximadamente 1% do óleo essencial incluem sabinene e β -pinene: 1.6%; β -phellandrene, 1,8-cineole e limonene: 2.9%; terpinen-4-ol, 0.6%, e β -terpineol: 0.5% (OKUNADE, 2002).

Os sesquiterpenos principais são β -caryophyllene (β -cariofileno), 1.9%, sendo que 10.5% do óleo é obtido de Camarões e 14-17% do óleo paquistanês. δ -cadinene é outro sesquiterpeno que tem sido reportado e ocorre em aproximadamente 4,3% do óleo de plantas indianas (OKUNADE, 2002).

1.3.4.2 Cromenos, benzofuranos e cumarinas

O componente mais comum do óleo essencial de *A. conyzoides* é o 7-metoxi-2,2-dimetilcromeno. Este composto tem sido obtido em percentagens que variam de 30%, do óleo vietnamita, a 90% do óleo do Congo. O derivado 6,7-dimetoxi. Tem sido encontrado em percentagens de 0,7 % a 55% (OKUNADE, 2002).

Derivados benzofuranos, 2-(2'-metiletil)-5,6-dimetoxibenzofurano, 14-hidroxi-2Ii β ,3-dihidroeuparina também tem sido encontrados na planta. Foi reportado que o óleo essencial de *A. conyzoides* do Brasil rende 1,24% de cumarina, além de dois outros derivados cumarínicos não identificados (OKUNADE, 2002).

1.3.4.3 Flavonóides

A. conyzoides é uma planta muito rica em flavonóides polioxigenados. Um total de 21 flavonóides polioxigenados foi informado, somente desta espécie. Isto inclui 14 flavonas polimetoxiladas. Notável são as flavonas 3',4',5'-oxigenadas, que é raro encontrar em química de produtos naturais, mas ocorre bons rendimentos nesta planta. Estes exemplos incluem 5'-metoxinobiletina, linderoflavona B, 5,6,7,3',4',5'-hexametoxiflavona, 5,6,8,3',4',5'-hexametoxiflavona, eupalestina e outros. As polihidroxiflavonas incluem quercetina, campferol e outros compostos (OKUNADE, 2002).

1.3.4.4 Triterpenos e esteróis

O triterpeno friedelina e os esteróis β -sitosterol e stigmasterol foram encontrados nesta planta. Enquanto estes dois esteróis são os principais constituintes, outros esteróis secundários também tem sido isolados, como, brassicasterol e dihidrobrassicasterol, spinasterol e dihidrospinasterol (OKUNADE, 2002).

1.3.4.5 Alcalóides e outros compostos

Licopsamina (Figura 3) e equinatina (Figura 4), são os dois únicos alcalóides pirrolizidínicos isolados desta planta. São conhecidos por serem amplamente distribuídos na família *Asteraceae*, em particular nas tribos Senecioneae e Eupatorieae (OKUNADE, 2002).

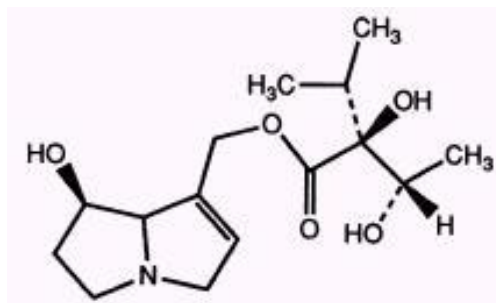


Figura 3 Licopsamina – Alcalóide pirrolizidínico.
Fonte: OKUNADE, 2002.

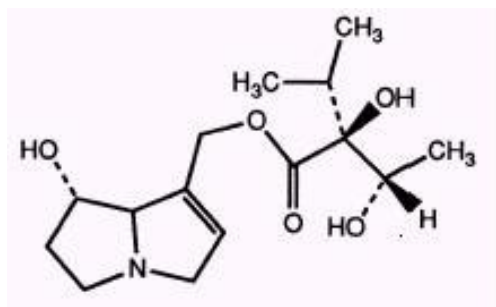


Figura 4 Equinatina – Alcalóide pirrolizidínico.
Fonte: OKUNADE, 2002.

Outros compostos isolados de *A. conyzoides* incluem sesamina, ácido fumárico, ácido cafeico, hidrocarbonetos, vitaminas A e B, lignana e outros (LORENZI; MATOS, 2002; OKUNADE, 2002).

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo Geral

Este trabalho teve por objetivo geral avaliar o perfil psicofarmacológico do extrato hidroalcoólico da espécie *Ageratum conyzoides* L. (*Asteraceae*) com ênfase na atividade antidepressiva e toxicidade aguda.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Investigar a propriedade antidepressiva do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* utilizando o teste do nado forçado em camundongos;
- Investigar a atividade antidepressiva de *A. conyzoides* através do teste de suspensão da cauda em camundongos;
- Avaliar a interferência do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* sobre a atividade locomotora espontânea em camundongos;
- Verificar o efeito do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* sobre a coordenação motora de camundongos no aparelho de rota-rod.
- Avaliar a toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* por meio da análise de variáveis de toxicidade definidas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção da Planta - Amostra

O material biológico (planta inteira e seca) foi coletado na região de Grão Pará (SC), por Antônio Alberton, com posterior identificação e depósito de uma excicata da planta pela Professora Dra. Vanilde Citadine Zanette do Herbário Pe. Dr. Raulino Reitz, da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

2.2 Preparação do Extrato Bruto Hidroalcoólico

A planta inteira seca e macerada foi colocada em um recipiente contendo o líquido extrator (solução hidroalcoólica 50%, água e etanol) e deixada em repouso durante um período de 10 dias. Após este período, com auxílio de funil e gaze, o extrato fluído foi filtrado e concentrado em Rota-vapor (Fisaton 802D), numa temperatura de 42°C e 117 RPMs. O extrato bruto hidroalcoólico foi armazenado em um frasco hermeticamente fechado, num local fresco e ao abrigo da luz.

2.3 Animais

Foram utilizados camundongos machos da cepa CF1, exceto para o teste de toxicidade aguda o qual foram utilizadas também fêmeas. Os animais foram adquiridos da FEPPS (Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde – RS), com idade entre 2 a 4 meses de idade e com massa corporal entre 35-40 g mantidos com água e comida “ad libitum” a uma

temperatura controlada (20 +/- 3°C). Após o término dos experimentos os camundongos foram submetidos à eutanásia por deslocamento cervical.

2.4 Substâncias Utilizadas

Os fármacos utilizados foram adquiridos por meio da SIGMA ALDRICH. O extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* foi solubilizado em solução salina 0,9%, assim como a imipramina. Paroxetina e venlafaxina foram solubilizados em solução de polipropilenoglicol a 20% (PPG 20%). Todas as substâncias foram administradas pela via intraperitoneal numa concentração de 0,01ml/g de peso corporal.

2.5 Testes Farmacológicos

2.5.1 Nado forçado

Os animais receberam os tratamentos sol. salina 0,9% e PPG 20% como controles, extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* nas doses 25, 50, 75, 150 e 300,0 mg/kg, imipramina 35,0 mg/kg, paroxetina 5,0 mg/kg e venlafaxina 20,0 e 40,0 mg/kg, todos pela via intraperitoneal (n=15). Após 30 min da administração dos tratamentos os animais foram colocados individualmente num cilindro de vidro (25 cm de altura e 10 cm de diâmetro), contendo 10 cm de água a 25°C, durante 6 minutos para a contagem do tempo de imobilidade. Nos dois primeiros minutos não foi contabilizado o tempo de imobilidade, já que este é considerado um tempo de adaptação. O tempo total de imobilidade foi medido durante os 4 minutos seguintes. Os animais foram considerados imóveis quando permaneciam flutuando passivamente na água (PORSOLT, 1997).

2.5.2 Teste de suspensão pela cauda

O método de suspensão pela cauda foi descrito por Steru et al. (1985). Os animais foram divididos em grupos (n=15) e receberam a administração dos tratamentos 30 min antes do teste. Os tratamentos foram os controles solução salina 0,9% e PPG 20%, extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* nas doses 25, 50, 75, 150 e 300,0 mg/kg, imipramina (35,0 mg/kg), paroxetina (5,0 mg/kg) e venlafaxina (20,0 e 40,0 mg/kg). Os camundongos foram isolados visual e acusticamente e suspensos pela cauda a 50cm de altura da bancada. Os animais ficaram presos por uma fita colocada a aproximadamente 1cm do final da cauda. Foi registrado o tempo total em que o animal fica imóvel durante um período de 6 minutos.

2.5.3 Atividade locomotora espontânea

Os animais receberam os tratamentos (sol. salina 0,9%; PPG 20%; extrato 25, 50, 75, 150 e 300,0 mg/kg; imipramina 20,0 mg/kg; paroxetina 5,0 mg/kg e venlafaxina 20,0 e 40,0 mg/kg) 30min antes do teste (n=10). A atividade locomotora espontânea foi avaliada com auxílio de uma caixa (45 x 20 x 20cm) com três fotocélulas horizontais acopladas. Os animais foram colocados individualmente na caixa e habituados por 5min. Durante os 15min seguintes foi observado o número de vezes em que o animal cruzou as fotocélulas (número de cruzamentos) (CREESE et al.,1976).

2.5.4 Teste Rota-Rod

A metodologia foi baseada no modelo utilizado por Bristow et al. (1996). Previamente foi feita a seleção dos animais para este teste, sendo que os camundongos que permaneceram no aparelho de rota-rod (18 rpm) por 120s, em pelo menos 02 de 03 tentativas foram selecionados para o teste feito 24 horas depois. No dia do teste, os animais receberam os tratamentos (sol. salina 0,9%; PPG 20%; extrato 25, 50, 75, 150 e 300,0 mg/kg; imipramina 20,0 mg/kg; paroxetina 5,0 mg/kg e venlafaxina 20,0 e 40,0 mg/kg) (n=10) e o tempo de permanência no rota-rod foi avaliado em 30 e 60min após a administração. A cada intervalo de tempo os animais foram colocados no aparelho ficando por no máximo 60s.

2.5.5 Análise estatística

Os resultados obtidos nos testes do nado forçado, suspensão da cauda e atividade locomotora espontânea foram analisados estatisticamente pelo teste de análise de variância ANOVA, seguido de *post hoc* Student-Newman-Keuls para comparação entre os grupos. A comparação entre os dados no teste do rota-rod, nos diferentes tempos, foi analisada usando o General Linear Model (GLM) com medidas repetidas (tratamento versus tempo), com tempo como medida repetida. O teste *post hoc* Student-Newman-Keuls foi usado para determinar diferenças entre os grupos.

2.6 Toxicidade Geral Aguda

A toxicidade aguda foi avaliada após a administração do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides*, do qual foram feitas curvas de doses (37,5; 75,0; 150,0; 300,0; 600,0; 1.200,0mg/kg), com o volume máximo não excedendo 1,2g/kg, numa concentração de

0,01ml/g pela via de administração oral, que é indicada para uso em humanos. Foram utilizados 10 machos e 10 fêmeas por dose.

Cada animal foi observado durante um minuto ao 0,30 min, 1, 2, 4, 6, 12, 24, e 48 horas após a administração do extrato e controle, para a presença de alterações respiratórias, digestivas e neurológicas que incluem: sialorréia (salivação excessiva), taquipnéia (respiração ofegante), hemoptise (presença de sangue pelo nariz), náusea, vômito, diarreia, tremores, mioclonia e convulsões. As seguintes variáveis em relação à atividade espontânea também foram observadas: (0): sem sedação, (1): baixa atividade espontânea, com resposta a estímulo; (2): baixa atividade espontânea, com resposta a estímulo e ptose palpebral; (3): baixa atividade espontânea, sem resposta a estímulo e com ptose palpebral; (4) perda do reflexo de endireitamento e (5) letalidade. Anotou-se o número de mortes ocorridas em 1, 24 e 48 horas pós-tratamento.

2.7 Análise Estatística

A análise estatística para sinais clínicos (sialorréia, taquipnéia, presença de hemoptise, náusea, vômito, diarreia, tremores, mioclonia e convulsões) foi feita por Mann Whitney Test. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Os dados foram apresentados em frequência absoluta de animais que manifestaram a variável ou score médio e desvio padrão do grupo para atividade espontânea.

3 RESULTADOS

3.1 Teste do Nado Forçado

A Figura 5 expressa os resultados do efeito do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* sobre o tempo de imobilidade no nado forçado. Os resultados mostram que o extrato nas doses de 75,0 e 150,0 mg/kg diminuiu significativamente o tempo de imobilidade em relação aos animais controles [$F_{(10,141)} = 10,809$ $P < 0,000$]. Resultado semelhante ao obtido com a paroxetina na dose de 5,0 mg/kg. Entretanto, a imipramina demonstrou reduzir significativamente o tempo de imobilidade tanto em relação aos animais controles quanto em relação ao extrato e a paroxetina.

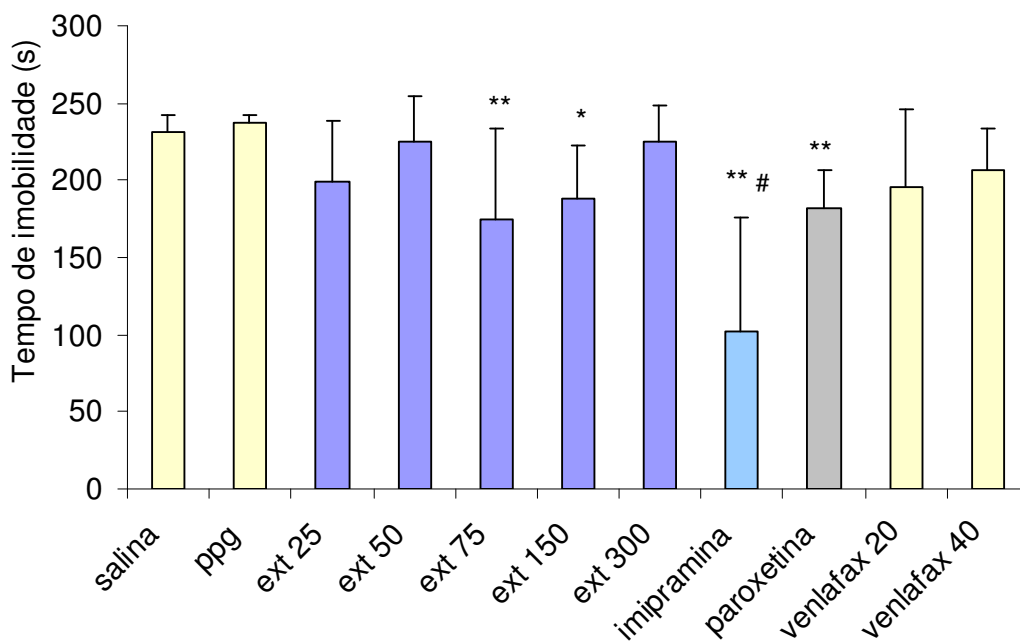


Figura 5: Efeito do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* (ext 25, 50, 75, 150 e 300,0 mg/kg, i.p.), imipramina (35,0 mg/kg, i.p.), paroxetina (5,0 mg/kg, i.p.) e venlafaxina (venlafax 20,0 e 40,0 mg/kg, i.p.) e controles (sol. salina 0,9% e PPG 20%) sobre o tempo de imobilidade no nado forçado (n=15). Os resultados estão expressos como média e erro padrão. **= $P < 0,01$, *= $P < 0,05$ vs controles; #= $P < 0,01$ vs extrato e paroxetina; ANOVA, seguida do teste de Student-Newman-Keuls.

3.2 Teste de Suspensão da Cauda

O tempo de imobilidade dos animais no teste de suspensão da cauda foi significativamente reduzido pelo extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* na dose de 25,0 mg/kg [$F_{(10,134)} = 22,348$ $P < 0,000$]. Os resultados obtidos com paroxetina, imipramina e venlafaxina 20,0 mg/kg foram semelhantes entre si e em relação ao extrato 25,0 mg/kg. Entretanto, a venlafaxina na dose de 40,0 mg/kg foi significativamente diferente dos controles e dos tratamentos (Figura 6).

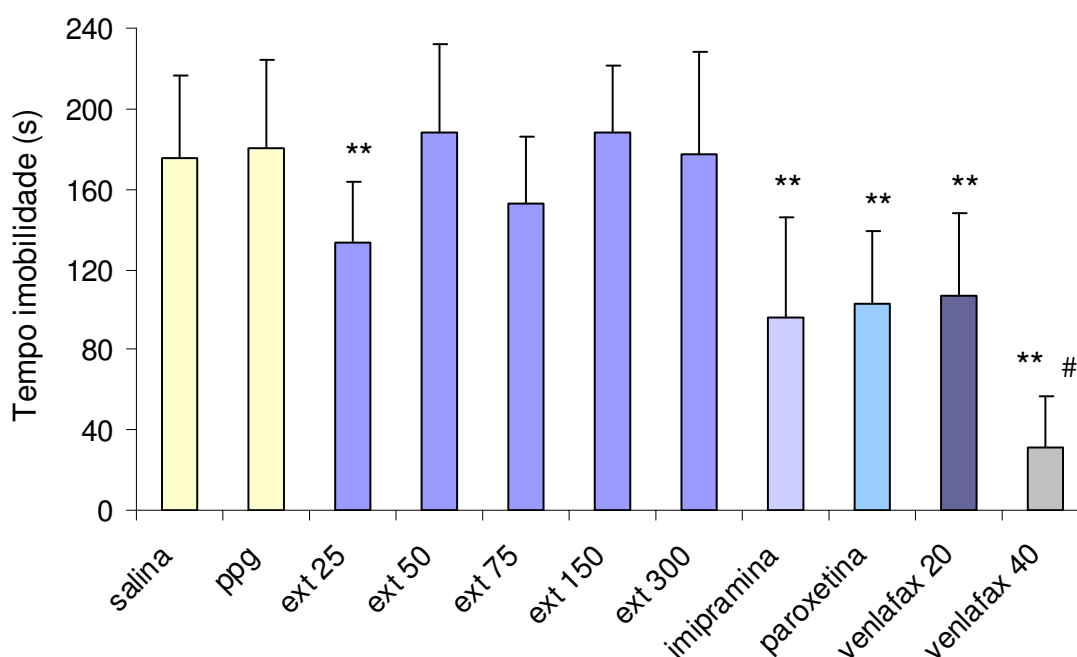


Figura 6: Efeito do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* (ext 25, 50, 75, 150 e 300,0 mg/kg, i.p.), imipramina (35,0 mg/kg, i.p.), paroxetina (5,0 mg/kg, i.p.) e venlafaxina (venlafax 20,0 e 40,0 mg/kg, i.p.) e controles (sol. salina 0,9% e PPG 20%) sobre o tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda (n=15). Os resultados estão expressos como média e erro padrão. **= $P < 0,01$ vs controles; # = $P < 0,01$ vs tratamentos; ANOVA, seguida do teste de Student-Newman-Keuls.

3.3 Teste do Rota-Rod

O extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* não alterou a coordenação motora dos animais em relação ao controle nos tempo de observação do teste do rota-rod. No entanto, a dose de 50,0 mg/kg do extrato reduziu o tempo de permanência na barra no tempo de 60 minutos em relação às doses 25,0, 75,0 e 150,0 mg/kg do extrato [$F_{(5,63)} = 3,041$ $P < 0,016$] (Figura 7).

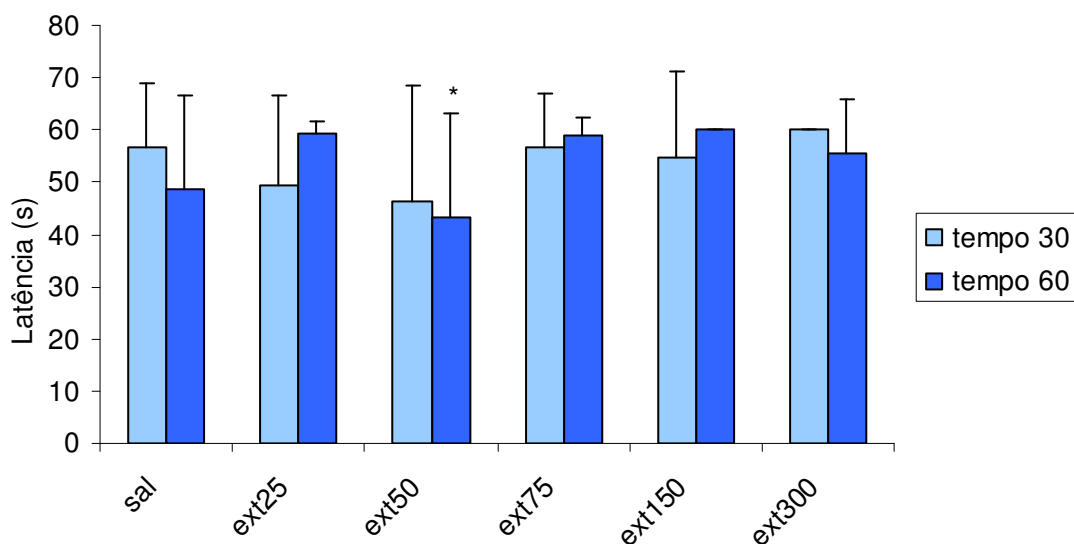


Figura 7: Efeito do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* nas doses de 25,0, 50,0, 75,0, 150,0 e 300,0 mg/kg (ext25; ext50; ext75; ext150; ext300) sobre o tempo de permanência na barra no modelo do rota-rod. *= $P < 0,05$ vs controle solução salina 0,9% (sal), General Linear Model (GLM) para medidas repetidas (tratamento versus tempo), seguido do teste de Student-Newman-Keuls.

3.4 Atividade Locomotora Espontânea

Como pode ser visto na Figura 8, a atividade locomotora espontânea dos camundongos não alterou significativamente o número de cruzamentos pela prévia

administração do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* nas doses testadas (25,0, 50,0, 75,0, 150,0 e 300,0 mg/kg) em relação aos controles [$F_{(10,89)} = 3,504 P < 0,001$]. Os antidepressivos imipramina, paroxetina e venlafaxina também não alteraram a atividade locomotora dos animais.

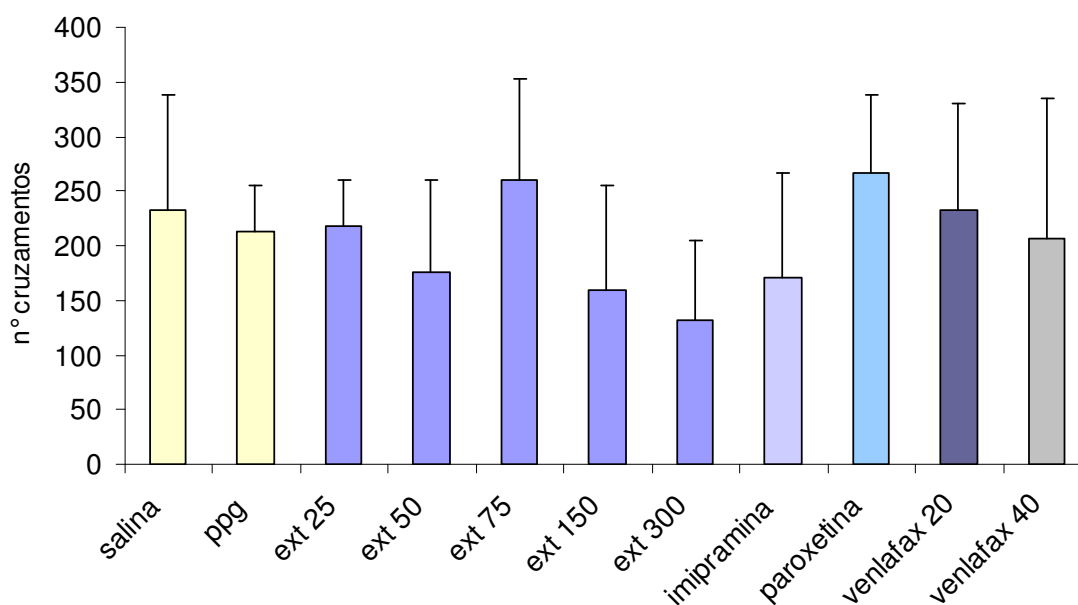


Figura 8: Efeito da administração do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* nas doses de 25,0, 50,0, 75,0, 150,0 e 300,0 mg/kg (ext25; ext50; ext75; ext150; ext300), imipramina (35,0 mg/kg), paroxetina (5,0 mg/kg) e venlafaxina (20,0 e 40,0 mg/kg) sobre o número de cruzamentos no teste de atividade locomotora espontânea em relação aos controles solução salina 0,9% (salina) e PPG 20% (ppg). ANOVA.

3.5 Toxicidade Aguda

Os resultados da administração do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* em camundongos fêmeas mostraram que na dose de 37,5 mg/kg os efeitos tóxicos em relação à atividade espontânea foram significativos nos tempos 30 min, 1, 2, 4, 6 e 12 horas após a administração. Na dose de 75,0 mg/kg, nos tempos 30 min, 1, 2, 4 e 6 horas após a

administração, os animais apresentaram baixa atividade espontânea quando comparado com o grupo controle (solução salina 0,9%). A dose de 150,0 mg/kg apresentou diminuição significativa da atividade espontânea nos tempos 30 min, 2, 4 e 6 horas, e na dose de 300,0 mg/kg esse efeito foi constatado nos tempos 0, 30 min, 2, 4 e 6 horas após a administração do extrato. Nas doses de 600,0 e 1.200,0 mg/kg os animais mostraram baixa atividade espontânea significativa nos tempos 30 min, 1, 2, 4, 6 e 12 horas e 0, 30 min, 1, 2, 4 e 6 horas, respectivamente (Figura 9).

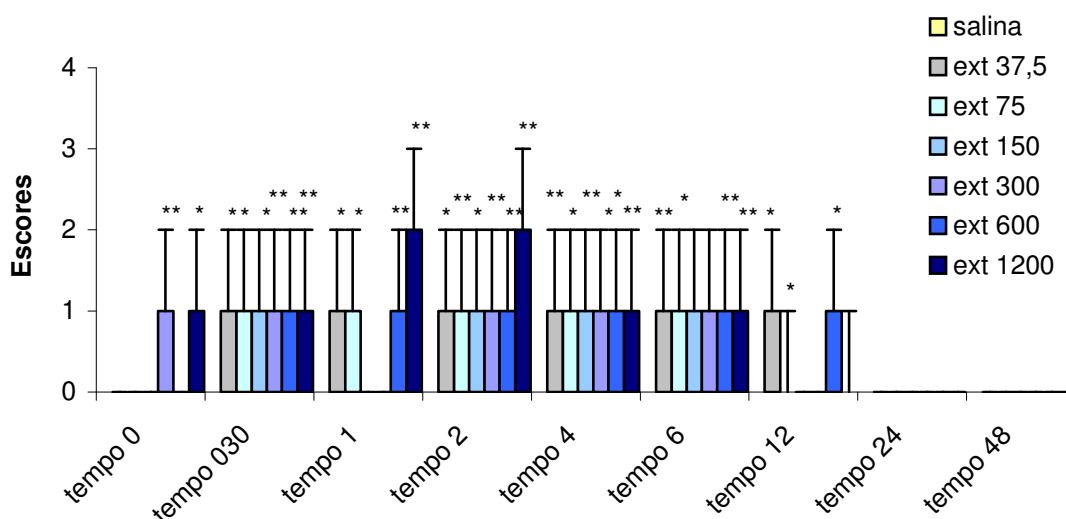


Figura 9: Efeito da administração aguda do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* sobre a atividade espontânea no teste de toxicidade aguda em camundongos fêmeas. Os dados estão expressos em média e desvio padrão dos escores (n=10). * = $P \leq 0,05$; ** = $P \leq 0,01$ Mann-Whitney Test.

Em relação aos machos, na comparação entre o grupo controle (solução salina 0,9%) e o extrato hidroalcoólico, verificou-se que na dose de 37,5 mg/kg os efeitos tóxicos em relação à atividade espontânea mostraram-se significativos nos tempos 30 min e 1 hora, e na dose de 75,0 mg/kg somente no tempo de 1 hora após a administração. Nas doses de 150,0,

300,0, 600,0 e 1.200,0 mg/kg houve diferença significativa na atividade espontânea nos tempos 0, 30 min, 1 e 2 horas após a administração do extrato (Figura 10).

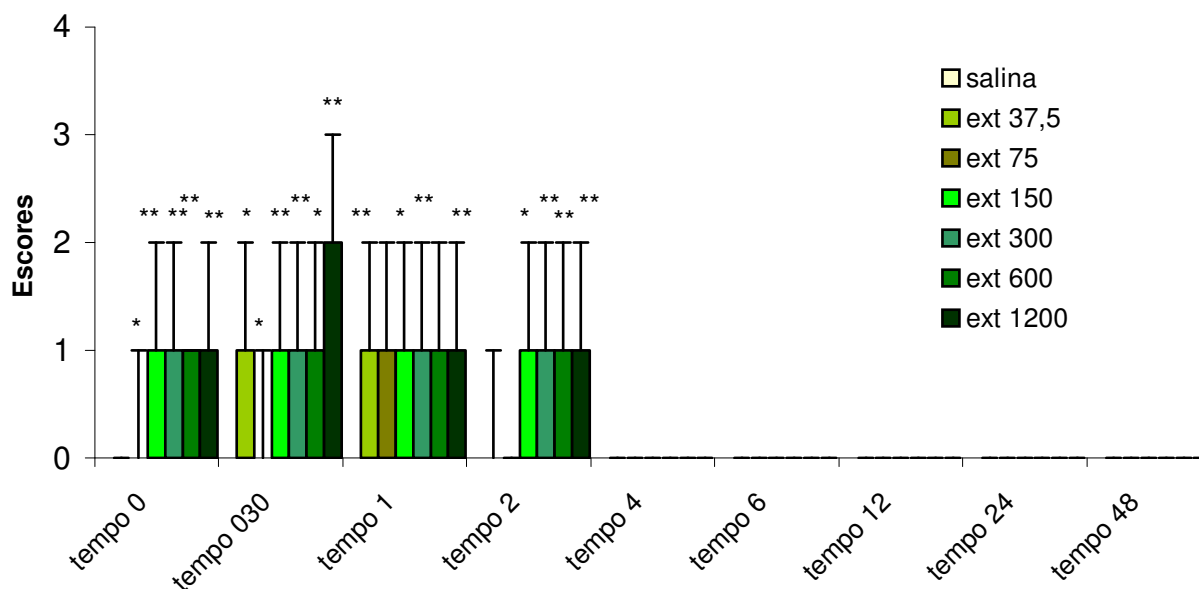


Figura 10: Efeito da administração aguda do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* sobre a atividade espontânea no teste de toxicidade aguda em camundongos machos. Os dados estão expressos em média e desvio padrão dos escores (n=10). * = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$ Mann-Whitney Test.

De acordo com os resultados obtidos em relação aos parâmetros comportamentais observados nas fêmeas houve diferença significativa para taquipnéia entre o grupo controle (solução salina 0,9%) e o o extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* nas doses de 150,0, 300,0, 600,0 e 1.200,0 mg/kg. Para náusea a diferença significativa entre os grupos foi observada nas doses de 600,0 e 1.200,0 mg/kg e para o vômito na dose de 1.200,0 mg/kg .

Após a administração do extrato de 1.200,0 mg/kg, todos os camundongos fêmeas apresentaram tremor. Em relação à convulsão mioclônica (*Myoclonic Jerks*) apresentada pelas fêmeas, a diferença significativa entre o grupo controle e o extrato foi verificada em todas as doses administradas (37,5; 75,0; 150,0; 300,0; 600,0 e 1.200,0 mg/kg) (Figura 11).

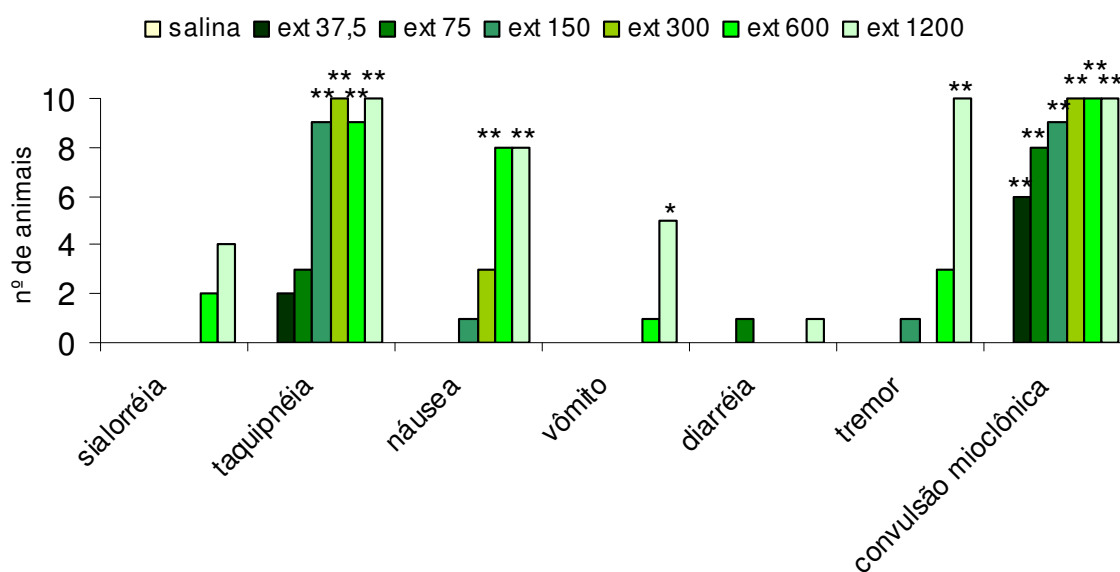


Figura 11: Efeito da administração aguda do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* sobre as variáveis indicativas de toxicidade (sialorréia, taquipnéia, náusea, vômito, diarreia, tremor e convulsão mioclônica) em camundongos fêmeas. * = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$ Kruskal-Wallis Test.

Já em relação aos parâmetros observados nos machos a diferença significativa para taquipnéia entre o grupo controle (solução salina 0,9%) e o extrato hidroalcoólico foi observada nas doses de 37,5, 150,0, 300,0, 600,0 e 1.200,0 mg/kg. Para a náusea houve diferença significativa nas doses de 150, 300, 600 e 1.200,0 mg/kg. De acordo com os resultados nenhum camundongo macho apresentou vômito.

Para tremor a diferença significativa entre o grupo controle (solução salina 0,9%) e extrato hidroalcoólico foi observada nas doses de 150, 300, 600 e 1.200,0 mg/kg. A diferença entre os grupos em relação à convulsão mioclônica (*Myoclonic Jerks*) mostrou-se significativa em todas as doses administradas (37,5, 75, 150, 300, 600 e 1.200,0 mg/kg) (Figura 12).

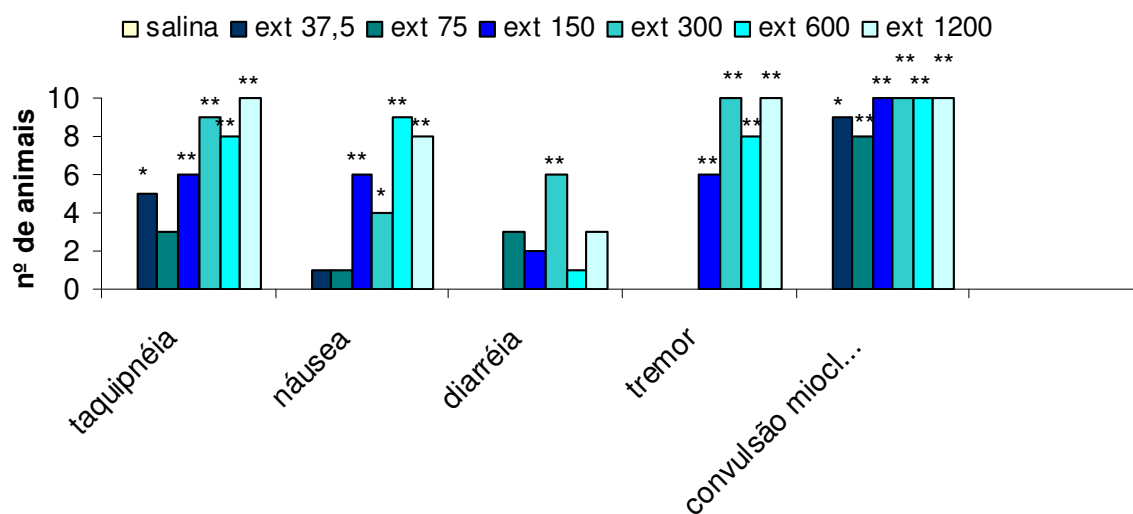


Figura 12: Efeito da administração aguda do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* sobre os parâmetros comportamentais indicativos de toxicidade (sialorréia, taquipnéia, náusea, vômito, diarreia, tremor e convulsão mioclônica) em camundongos machos. * = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$, Kruskal-Wallis Test.

4 DISCUSSÃO

A depressão pode ser considerada uma doença de difícil tratamento. Muitos pacientes são relutantes em utilizar fármacos antidepressivos, principalmente por estes estarem associados a efeitos adversos, tais como: inabilidade para dirigir, boca seca, constipação, disfunção sexual, entre outros. Dessa forma, os tratamentos alternativos, como por exemplo, as plantas medicinais, têm sido escolhidas por muitos pacientes depressivos (RICHELSON, 1994; DEMYTTENAERE, 1997).

Uma planta em particular é o *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae), largamente utilizada pela população da região de Criciúma. As propriedades atribuídas a ela por esta população são de tratar depressão, reumatismo, dores articulares e edemas, analgésico e antiinflamatório, cólicas menstruais, combate à tosse e no tratamento de psoríase (ESCOBAR et al., 2007, submetido).

Muitas atividades atribuídas a *A. conyzoides* já foram estudadas e algumas delas, como antiarrítmica, antimicrobiana, analgésica e antiinflamatória, comprovadas cientificamente (OKUNADE, 2002). A partir dos dados da literatura, verifica-se que esta planta age diretamente no sistema nervoso central baixando a temperatura corporal (ABENA et al., 1993), agindo como anticonvulsivante (WHITTLE; TURNER, 1991), além de ser utilizada popularmente no tratamento de doenças mentais.

Neste estudo, o extrato hidroalcoólico da planta inteira de *A. conyzoides* reduziu o tempo de imobilidade no teste do nado forçado nas doses de 75,0 e 150,0 mg/kg. Resultado semelhante ao obtido com os antidepressivos imipramina e fluoxetina (Figura 5). O modelo do nado forçado foi descrito originalmente por Porsolt et al. (1977), sendo o teste farmacológico mais utilizado para avaliação da atividade antidepressiva de vários compostos. Os animais, quando colocados em cilindros com água sem chance de escape, desenvolvem

comportamento de imobilidade. Isso reflete a desistência do animal de tentar escapar de um estresse persistente ou o desenvolvimento de comportamento passivo que impede o animal de agir contra o estímulo estressante (LUCKI, 1997). Uma grande quantidade de fármacos antidepressivos previne o desenvolvimento do comportamento de imobilidade no nado forçado (BORSINI; MELI, 1988).

Os resultados obtidos no modelo de suspensão pela cauda mostram que o extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* diminui, significativamente, o tempo de imobilidade na dose de 25,0 mg/kg (Figura 6). Os fármacos imipramina, fluoxetina e venlafaxina também demonstraram efeito semelhante.

O teste de suspensão pela cauda é um modelo para avaliação de substâncias com propriedade antidepressiva largamente utilizado. Durante o teste, o comportamento do animal pode ser dividido em períodos de agitação e imobilidade. A partir deste modelo, várias drogas psicotrópicas já foram testadas, como: anfetamina, amitriptilina, atropina, desipramina, mianserina, nominfensina e venlafaxina. Os fármacos antidepressivos demonstraram diminuir a duração da imobilidade e a maioria aumenta o poder dos movimentos. Se acoplado com medida da atividade locomotora em circunstâncias diferentes, o teste locomotor pode diferenciar as doses do estimulante das doses do antidepressivo (STERU et al., 1987). As principais vantagens deste procedimento são o uso de uma situação simples, objetiva do teste e a concordância dos resultados com “o teste validado do desespero comportamental” de Porsolt, o modelo de nado forçado.

Neste sentido, o extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* não alterou a atividade locomotora espontânea, verificada pela não diminuição significativa do número de cruzamentos na caixa de atividade locomotora dos camundongos, em relação ao controle em nenhuma das doses testadas (Figura 8). Pela união desses resultados obtidos nesse estudo,

pode-se sugerir que o extrato da planta inteira de *A. conyzoides* possui atividade antidepressiva em baixas doses, sem alterar a locomoção dos animais.

Outro modelo utilizado nesse estudo foi o teste do Rota-Rod. Esse modelo é utilizado para uma avaliação de efeitos sedativos ou interferência sobre a coordenação motora de diferentes compostos (BRISTOW et al 1996). O extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* apresentou efeito significativo sobre o tempo de permanência na barra apenas na dose de 50,0 mg/kg no tempo de 60 minutos de observação (Figura 7). Esse resultado sugere que o efeito antidepressivo observado nos testes do nado forçado e de suspensão da cauda possivelmente não sofreu interferência sobre a coordenação motora, podendo ter sido apenas um erro de experimentação. Esse resultado deve, entretanto, ser melhor investigado.

Estudos mostram que o *Ageratum conyzoides* atua sobre sistema nervoso central tendo ação anticonvulsivante (WHITTLE; TURNER, 1991) e baixando a temperatura corporal (ABENA et al., 1993). Outro estudo mostrou que o *A. conyzoides* possui afinidade seletiva ao neuropeptídeo endógeno bradicinina (BKII) implicada na mediação da dor, atividade exercida por seus compostos fenólicos (SAMPSON et al., 2000). As propriedades farmacológicas dos compostos dessa planta ainda não foram bem investigadas; porém, alguns indícios sugerem que a atividade sobre o sistema nervoso central seja exercida por vários desses compostos. Por exemplo, simples cromenos e cromanos, especialmente os derivados 6-amino e 6-acetamido presentes no *A. conyzoides* foram avaliados como tendo propriedades antidepressiva, analgésica e antipirética (OKUNADE, 2002). Compostos como os flavonóides possuem uma extensiva gama de atividades biológicas. Embora as atividades biológicas dos flavonóides de *A. conyzoides* não tenham sido bem investigadas, é importante destacar quatro polimetoxiflavonas isoladas de sucos cítricos que têm se mostrado importantes candidatas para prevenção de câncer. Duas dessas polimetoxiflavonas são as mesmas isoladas de *A. conyzoides* (OKUNADE, 2002).

Os antidepressivos, em geral, atuam facilitando a transmissão monoaminérgica central, principalmente estimulando a transmissão serotoninérgica (CRYAN; LUCKI, 2000). O envolvimento hormonal na depressão tem papel fundamental na gênese desse distúrbio, levando à alteração na transmissão serotoninérgica e noradrenérgica (BALE, 2006).

A primeira teoria da depressão foi proposta por Schildkraut em 1965, baseada principalmente na ação da reserpina, iproniazida e imipramina (SCHILDKRAUT, 1965 apud SLATTERY et al., 2004). Essa teoria propõe que uma deficiência de catecolaminas, particularmente a NA, leva a alguma forma de depressão. Iproniazida, na década de 50, mostrou elevar o humor de pacientes deprimidos. Mais tarde foi demonstrado que essa ação se devia a um aumento de NA e 5-HT por inibição da enzima monoaminoxidase (MAO). A imipramina, por sua vez, demonstrou que exerce o mesmo efeito, porém por meio da inibição da recaptação celular de noradrenalina (HERTTING, 1961).

A teoria noradrenérgica recebeu principal avanço com a descoberta de novos antidepressivos na década de 90, como: mirtazapina, venlafaxina e, particularmente, a reboxitine, o mais específico inibidor da recaptação de noradrenalina aprovado para o tratamento da depressão (SLATTERY et al., 2004).

A teoria serotoninérgica ganhou, especialmente, peso com a introdução dos fármacos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) na década de 70, sendo estes os principais fármacos antidepressivos prescritos. O sucesso dos ISRS levou a um aumento das pesquisas sobre o papel da serotonina na depressão a partir da década de 80 (SLATTERY et al., 2004).

Entretanto, essas hipóteses monoaminérgicas não explicam o fato de que as alterações dos neurotransmissores ocorrerem logo após a administração dos fármacos. Contudo, a ação terapêutica somente ocorre após 2-4 semanas. Além disso, o fato dos antidepressivos não elevarem o humor de pessoas saudáveis não corroboram com as hipóteses originais (STAHL,

1998). Portanto, vários estudos ainda estão sendo desenvolvidos para a compreensão do mecanismo da depressão.

A pesar de bilhões de dólares serem utilizados pela indústria e academia à procura por novos fármacos mais eficazes, com efeito terapêutico mais rápido ainda não teve sucesso (BERTON; NESTLER, 2006). Ao mesmo tempo, essas pesquisas têm sido um acúmulo de conhecimento sobre os sistemas não-monoaminérgicos que podem contribuir para o esclarecimento da patofisiologia da depressão em modelos animais e algumas evidências em humanos também são avaliados (CHARNEY, 2004; DUMAN, 2004).

Os ISRS e, certamente, os inibidores seletivos da recaptção de serotonina e noradrenalina (ISNS) são comparáveis à eficácia no tratamento da depressão com significativa redução do risco de toxicidade, e menos efeitos adversos em comparação com tricíclicos e inibidores da MAO (CLAYTON et al., 2006). Entretanto, estão relacionados também a vários efeitos como disfunção sexual, ganho de peso, apatia e indiferença, alteração do sono entre outros vários, sendo argumentos para a exploração de terapias alternativas para o tratamento da depressão (CLAYTON et al., 2006; KENNEDY, 2006)

O efeito antidepressivo de um desses tratamentos alternativos, a erva de São João ou *Hypericum perforatum*, estão bem documentado em estudos experimentais como o teste de suspensão da cauda, nado forçado, testes de aprendizagem e de déficits de escape. Nestes estudos a erva de São João demonstrou ter efeitos semelhantes aos fármacos antidepressivos convencionais (DI CARLO, 2001; FLAUSINO, 2002). Semelhante aos fármacos, essa planta leva à mudança adaptativa na densidade de receptores α -adrenérgicos, 5-HT1 e 5-HT2 no córtex frontal de rato (MULLER, 1998; TEUFEL-MAYER; GLEITZ, 1997). Vários estudos indicam que os efeitos terapêuticos dos extratos de *Hypericum* são exercidos principalmente pelo composto hyperforina.

Esse composto inibe a recaptção de 5-HT, NA, DA similar aos inibidores convencionais, além de inibir a recaptção de L-glutamato e GABA. Isso mostra que hyperforina possui um perfil antidepressivo não seletivo (DI CARLO, 2001).

O mecanismo de ação da propriedade antidepressiva do *A. conyzoides* não foi investigado nesse trabalho. Entretanto, estudos preliminares são os primeiros passos para uma avaliação farmacológica mais aprofundada dessa espécie e a definição de seu mecanismo de ação.

A avaliação toxicológica compreende a análise dos dados toxicológicos de uma substância ou composto químico com o objetivo de fornecer informações a respeito da forma correta de seu emprego, bem como as medidas preventivas quanto ao uso inadequado (LARINE, 1997).

Os dados toxicológicos são informações obtidas através da experimentação em animais de laboratório, em ensaios com microorganismos ou através do registro de casos de intoxicações ocorridas em seres humanos. Os efeitos tóxicos podem ser classificados de vários modos. Frequentemente, a toxicidade é classificada por efeitos causados aos órgãos como cérebro, pulmão e rins, por tipos de respostas relacionadas com carcinogenicidade, comportamento, e outras (HODGSON; LEVI, 1997; LARINE, 1997).

Toxicidade aguda pode ser o resultado de uma única exposição ou de exposições múltiplas a um agente tóxico dentro de um curto período de tempo (geralmente menos de 24 horas). A exposição aguda normalmente produz efeitos imediatos, mas também podem produzir efeitos tardios (HODGSON; LEVI, 1997).

Experimentalmente, Moura et al. (2005) e Abena et al. (1993) verificaram os efeitos antiinflamatório e analgésico, respectivamente, de *A. conyzoides* (mentrasto) em modelos animais. Entretanto, apesar de ser muito utilizado, pouco se conhece a respeito de seu efeito sobre o organismo quando utilizado por via oral.

A dose letal obtida em 50% dos animais (DL₅₀) com o extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* não foi efetuada uma vez que não ocorreram mortes entre os animais tratados com as doses utilizadas neste estudo.

Neste estudo verificou-se que o extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* apresentou toxicidade em relação a atividade locomotora espontânea tanto em camundongos machos quanto fêmeas (Figuras 08 e 09). Entretanto, a toxicidade apresentou-se mais significativa nos animais fêmea (Figura 08).

De acordo com diversos estudos etnobotânicos realizados, percebe-se que a utilização de plantas medicinais e produtos naturais é acentuadamente mais comum por mulheres do que por homens. Os efeitos tóxicos do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* obtidos neste estudo demonstram ser mais proeminentes nos camundongos fêmeas que nos machos. Este fato pode ser relevante quanto ao uso de plantas sem estudos toxicológicos, pois a utilização destas pode contribuir para o aparecimento de efeitos tóxicos, muitas vezes, não associados à utilização de plantas pelos usuários. Esses efeitos podem ser importantes principalmente em indivíduos com maior tendência ao uso, como as mulheres.

A partir destes resultados obtidos sobre os parâmetros de toxicidade utilizados neste estudo, pôde-se observar que taquipnéia, tremor e convulsão mioclônica foram os efeitos tóxicos mais abrangentes tanto nas fêmeas quanto nos machos.

A revisão da literatura indica a presença de alcalóides pirrolizidínicos nas flores dessa planta, os quais são conhecidos por serem hepatotóxicos, genotóxicos, citotóxicos e pneumotóxicos (JI *et al.*, 2005; MOURA *et al.*, 2005). O sinal clínico de taquipnéia pode estar relacionado ao fato de alguns alcalóides pirrolizidínicos serem capazes de produzir hipertensão pulmonar e hipertrofia ventricular em diferentes espécies animais. Os metabólitos pirrólicos tóxicos, que são subprodutos do metabolismo hepático, são transportados pelo sangue até os pulmões e sugere-se que estes metabólitos causem o aumento da proteína

tenascina na matriz extracelular ao redor das artérias pulmonares, contribuindo para hipertrofia, já que esta proteína modula a proliferação e migração celular (CHOJKIER, 2003).

Observou-se que vários animais, tanto fêmeas quanto machos, apresentaram convulsões mioclônicas, demonstradas por leves puxões das patas dianteiras (*myoclonic jerks*). A convulsão mioclônica (*myoclonic jerks*) observada é indicativa de correntes elétricas abruptas e sincrônicas de neurônios hiperexcitáveis em todo o córtex e tronco cerebral (MALOW *et al.*, 1994).

Em alguns camundongos, tanto em fêmeas quanto em machos, foi observado um comportamento denominado *Jumping*, onde os animais saltam verticalmente a uma altura em torno de 30 cm. Sugere-se que este comportamento esteja envolvido na ativação de receptores NMDA de glutamato contribuindo para o potencial sináptico excitatório do mesmo (LEAL, *et al.*, 2003; RANG, 2003). Portanto, o extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* poderia estar atuando na estimulação da transmissão excitatória do sistema nervoso central. Entretanto, seria necessária a realização de estudos específicos para o esclarecimento destes mecanismos.

Shirwaikar e colaboradores (2003) realizaram um estudo sobre a atividade gastroprotetora de *A. conyzoides*. Neste trabalho foi efetuado o teste de toxicidade aguda em camundongos com o extrato etanólico desta espécie administrado oralmente, empregando doses de 100, 500, 1.000, 3.000, 6.000 e 10.000,0 mg/kg (N=6). Os resultados obtidos pelos autores mostraram que o extrato não apresentou toxicidade, sugerindo ser seguro até a dose de 10.000,0 mg/kg. Porém, neste estudo os autores não apresentam os parâmetros de toxicidade que foram utilizados.

De acordo com Larine (1997), diversas instituições internacionais ligadas à regulamentação da toxicidade dos compostos químicos, recomendam o limite máximo de 2.000 mg/kg para a execução de testes toxicológicos e um número de animais não inferior a 10 (dez) para cada dose experimental.

No presente estudo, a variável tremor que foi observada nos animais, tanto em fêmeas como em machos, pode estar relacionada com a possível hepatotoxicidade provocada pelos alcalóides presentes no extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides*. Nem todos os alcalóides pirrolizidínicos presentes nessa espécie possuem toxicidade semelhante. No fígado estes alcalóides são transformados em metabólitos pirrólicos pelas oxidases. Os metabólitos pirrólicos tornam-se tóxicos através de ligação com macromoléculas celulares, incluindo proteínas e DNA. Estas células podem se tornar acentuadamente tóxicas causando doença venoclusiva hepática e cirrose. Entretanto, outros alcalóides pirrolizidínicos, ou seus metabólitos ativos, podem ser transformados em metabólitos solúveis e excretados através da urina (RODE, 2002).

O dano hepático principal dos alcalóides pirrolizidínicos é a doença venoclusiva hepática, que é a principal complicação médica que necessita de transplante de medula óssea. Portanto, indivíduos que consomem plantas medicinais que contêm alcalóides pirrolizidínicos correm o risco de desenvolver toxicidade aguda e/ou crônica no fígado e pulmões. Isto inclui falência aguda do fígado, cirrose, hipertensão pulmonar e parada cardíaca (CHOJKIER, 2003).

Dessa forma, outros estudos se fazem necessários para uma melhor avaliação da toxicidade desta espécie. A toxicidade crônica é de extrema relevância, uma vez que os indivíduos que utilizam plantas medicinais, normalmente, fazem uso mais freqüente e, portanto, os efeitos podem ser mais acentuados ou diferentes dos observados na toxicidade aguda.

A espécie *A. conyzoides* merece mais investigações quanto ao seu potencial antidepressivo a partir do seu extrato bruto e frações. Entretanto, deve-se investigar, sobretudo, o seu óleo essencial, uma vez que este não possui alcalóides pirrolizidínicos que conferem toxicidade aos extratos da planta.

Os resultados são de grande relevância, uma vez que a população de Criciúma e municípios próximos utilizam-se largamente dessa espécie medicinal sem o conhecimento de sua toxicidade. Portanto, mais investigações devem ser feitas e seus resultados divulgados para a população como o objetivo de uso mais seguro por esta.

Este estudo, mais uma vez, ressalta a importância da etnofarmacologia para a descoberta de novos compostos com propriedades farmacológicas, ou mesmo como ferramenta para melhor compreender a patofisiologia de diferentes enfermidades.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABENA, A. A.; KINTSANGOULA-MBAYA, G.S. et al. Analgesic effects of a raw extract of *Ageratum conyzoides* in the rat. **Encephale**, v. 19, n. 4, p. 329-332, 1993.

ANDERSON I. M.; BLAND R. C.; CANINO G.J. et al. Cross-national epidemiologic of major depression and bipolar disorders. **JAMA**; v.276, n.4, 293-299, 1996.

AKHONDZADEH S., FALLAH-POUR H., AFKHAM K, JAMSHIDI A-H.; KHALIGHI-CIGAROUFI F. Comparison of *Crocus sativus L.* and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: A pilot double-blind randomized trial. [ISRCTN45683816] **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.4, n.12, 1-5, 2004

ALTAMIRANO J. C.; GRATZ S. R.; WOLNIK K. A. Investigation of pirrolizidine alkaloids and their N-oxides in commercial comfrey-containing products and botanical materials by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. **J AOAC Int.**; v. 88, p. 406-412, 2005.

ANDRADE FILHO, A.; CAMPOLINA, D.; DIAS, M. B. **Toxicologia na prática clínica**. Belo Horizonte: Folium, 2001. 341 p.

ANKE S.; NIEMÜLLER D.; et al. Polyphyletic Origin of Pyrrolizidine Alkaloids within the Asteraceae: Evidence from Differential Tissue Expression of Homospermidine Synthase. **Plant Physiology**; v. 136, p. 4037-4047, 2004.

BALICK, M. J. Ethnobotany and the identification of therapeutic agents from the rainforest. **Ciba Found Symp.**, v. 154, p. 22-31. 1990.

BALLONE G. J. **Antidepressivos Tricíclicos**. In. PsiqWeb. disponível em <http://www.psiqweb.med.br/farmac/tricic.html> acesso em 2003.

BENDAZZOLI, W. S. Fitomedicamentos: Perspectivas de resgate de uma terapia histórica. **O mundo da saúde**, v. 24, n.2, p. 123-126, mar./abr. 2000.

BERMUDEZ, J. Medicamentos: uma questão polêmica. **Ciência Hoje**, v. 27, n.161, p. 60-62, 1995.

BERTON, O.; NESTLER, E. J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, p 137-151, 2006.

BIOKA, D.; BANYIKWA, F. F.; CHOUDHURI, M. A. Analgesic effects of crede extract of *Ageratum conyzoides* in the rat. **Acta Horticulturae**, v. 332, p. 171-176. 1993.

BOTTHAKUR, N.; BARUAH, A. K. S. **Search for precocenes in *Ageratum conyzoides* Linn. Of North-East India. Chem. Soc.**, v. 64, p. 580-581. 1987.

BORSINI F; MELI A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? **Psychopharmacology** 94:147–160, 1988.

BURKILL, H. M. **The useful plants of west tropical Africa**. Royal Botanical Gardens Kew, London, 1985, p. 960.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz J Med Biol Res.**, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.

CALIXTO, J.B. Estudo Farmacológico Pré-clínico de Plantas Mediciniais. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (Editado por). **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: UNOESC, 2001. 523 p.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America. A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.

CARLINI E. A. Plants and the central nervous system. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 75, 501-512, 2003.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A. A dialética do conhecimento no uso das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.3, 2001.

CEBRID – Centro Brasileiro de informações sobre drogas Psicotrópicas. Universidade Federal de São Paulo, Dept. de Psicobiologia. Disponível em: <http://www.saude.inf.br/cebrid.htm>>. Acesso em: 10 nov. 2005.

CENTRO POPULAR DE SAÚDE – YANTEN. **Plantas: saúde para o povo**. Medianeira, Paraná, 1994. 66p.

CLAYTON A.; KELLER A.; MCGARVEY E.L. Burden of phase-specific sexual dysfunction with SSRIs. **Journal of Affective Disorders**, v. 91, p. 27– 32, 2006.

CHARNEY, D. S. Psychobiological mechanisms of resilience and vulnerability: implications for successful adaptation to extreme stress. **Am. J. Psychiatry** 161,195–216 (2004).

CID – 10. **Classificação de Transtornos Mentais e de Comportamento da CID-10:** descrição clínicas e diretrizes diagnósticas. Porto Alegre: Artes Médicas, 1993.

CHOJKIER, M. Hepatic sinusoidal-obstruction syndrome: toxicity of pyrrolizidine alkaloids. **J. of Hepat.**, v. 39, p. 437 – 446, 2003.

COUTINHO, D. F.; TRAVASSOS, L. M. A.; AMARAL, F. M. M. Estudo Etnobotânico de Plantas Medicinais utilizadas em comunidades indígenas do Estado do Maranhão. **Visão Acadêmica**, v. 3, n. 1, p. 7-12, 2002.

CORRÊA, A. D.; BATISTA, R. S.; QUINTAS, L. E. M. **Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica**. 5.ed Petrópolis: Vozes, 2002. 247 p. ISBN 8532619959

DEMYTTENAERE K. **Compliance** during treatment with antidepressants. **J Affec Dis** 1997, 43:27-39.

DI CARLO, G.; BORRELLI, F.; ERNST, E.; IZZO, A. A. St John's wort: Prozac from the plant kingdom. **TRENDS in Pharmacological Sciences**, v. 22, n.6, p. 292-297, 2001.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais, arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996. 230 p. ISBN 85-7139-117-3

DORIGONI, P. A. et al. Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no município de São João do Polêsine, RS, Brasil. I – Relação entre enfermidades e espécies utilizadas. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 4, n. 1, p. 69-79, 2001.

DULAWAA, S.C.; HENA, R. Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: The novelty-induced hypophagia test. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2005.

DUMAN, R. S. Role of neurotrophic factors in the etiology and treatment of mood disorders. **Neuromolecular Med.** 5, 11–25, 2004.

DURODOLA, J. L. Antibacterial property of credu extrats from a herbal wound healing remedy-*Ageratum conyzoides*. L. **Planta Med**, v. 32, n. 4, p. 388-390. 1977.

DREMENCOV, E; et al. The serotonin–dopamine interaction is critical for fast-onset action of antidepressant treatment: in vivo studies in an animal model of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry** 28, 141– 147, 2004.

DSM-IV. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais**. Trad. Dayse Batista; - 4 ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1995.

ELISABETSKY, E.; COSTA-CAMPOS, L. Medicinal plant genetic resources and international cooperation: the Brazilian perspective. **J Ethnopharmacol**, v. 51, n. 1-3, p. 111-119. 1996.

ELISABETSKY, E.; SETZER, R. Caboclo concepts of disease, diagnosis and therapy: implications for ethnopharmacology and health systems in Amazonia. In: Parker, E.P. (Ed.) **The Amazon Caboclo: historical and contemporary perspectives**. Williamsburgh, p. 243-278, 1985.

ESPÍNOLA, E. B, DIAS, R. F, MATTEI, R; CARLINI, E. A. Pharmacological activity of guarana´ (*Paullinia cupana* Mart.) in laboratory animals. **Journal of Ethnopharmacology**, 55:223-9, 1997.

FARNSWORTH, N. R. Screening plants for new medicines. In: WILSON, E. O. ed. **Biodiversity**. Washington: National Academy Press, p. 83-97, 1989.

FARNSWORTH, N. R. The role of ethnopharmacology in drug development. In: CHADWICK, D. J.; MARSH, J. **Bioactive compounds from plants**. New York: Ciba Foundation, 1990.

FETROW, C. W. **Manual de medicina alternativa: para o profissional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 743 p.

FLAUSINO, J. R.; et al. Effects of acute and chronic treatment with *Hypericum perforatum* L. (LI-160) on different anxiety-related responses in rats. **Pharmacol Biochem Behav**, 71: 259-65, 2002.

FIRST, M. B.; FRANCES, A.; PINCUS, H. A. (Org.). **Manual de diagnóstico diferencial do DSM-IV-TR**. Porto Alegre: ARTMED, 2004. 248 p.

GARCIA, E. A.; CARVALHO, M. P. Electrophysiological effects of *Ageratum conyzoides* L. on the guinea-pig heart. **Phytother Res.**, v. 13, n.2, p. 172-174, 1999.

GLENNON, R. A; YOUNG, R. Amphetamine-stimulus generalization to an herbal ephedrine product. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 65:655-8, 2000.

HAMBURGUER, M.; HOSTETTMANN, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**; v. 30, n. 12, p. 3864-3874, 1999.

HERTTING G., AXELROD J., WHITBY L.G. Effect of drugs on the uptake and metabolism of H3-norepinephrine. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 134, p.146–153, 1961.

HEN, R. **Modelos Genéticos de Depressão e Ansiedade**. American Psychiatric Association, Highlights; APA 158 th Annual Meeting, Atlanta, Georgia, USA, may, 2005.

HANSEN, R. A. Efficacy and Safety of Second-Generation Antidepressants in the Treatment of Major Depressive Disorder. **Annals of Internal Medicine**, v. 143, p.415-426. 2005

HODGSON, E.; LEVI, P.E. **A textbook of modern toxicology**. 2.ed. Stamford: Appleton & Lange, 1997. 496 p. ISBN 0838588875

JACCOUD, R. J. S. Contribuição para o estudo farmacognóstico do *Ageratum conyzoides* L. **Rev. Bras. Farm.**, v. 42, n. 11-12, p. 177-197. 1961.

JEROLA, C. M. **Uma perspectiva em Vigilância Sanitária**. Boletim; Psifavi; CEBRID; N° 20; 2004.

GORMAN, J. M. Gender Differences in Depression a Response to Psychotropic Medication. **Gender Medicine**, v.3, n.2, p. 93-106, 2006.

JENKINS, R.; et al. The National Psychiatric Morbidity Survey of Grest Britain – initial findings from the household surveys. **Psychol Med**; 27:775-89, 1997

JITSCHAK, G.; et al. Suicide Risk in Placebo-Controlled Studies of Major Depression. **Am J. Psychiatric**, v.158, p.1271-1275, 2001.

JI, L. L.; ZHANG, M.; WANG, Z. **Pyrrolidine alkaloid clivorine induces apoptosis in human normal liver L-02 cells and reduces the expression of p53 protein**. *Toxicol In Vitro*, v. 19, p. 41 – 46, 2005.

KRYSTAL, J. H. **Circuitos Neuroanatômicos Subjacentes aos Transtornos Ansiosos e Depressivos Highlights**. American Psychiatric Association – APA 158th Annual Meeting - May 2005 - Atlanta, Georgia – USA 2005

KAPLAN, H. I. **Compêndio de psiquiatria: ciências do comportamento e psiquiatria clínica**. Trad. Dayse Batista. – 7.ed. – Porto Alegre : Artes Médicas, 1997.

KAPCZINSKI, F.; QUEVEDO, J. I & IZQUIERDO, I. **Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos**. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000, p. 119-120.

KENNEDY S. H. A review of antidepressant treatments today. **European Neuropsychopharmacology**, v.16, p.S619–S624, 2006.

KELLER, M. B. **Compreender a Depressão e a Ansiedade: Um Desafio para Cientistas e Clínicos**. Highlights, American Psychiatric Association – APA, 158th Annual Meeting, May 2005, Atlanta: Georgia, USA, 2005

KESSLER, R. C. et al. Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States. Results from the National Comorbidity Survey. **Arch Gen Psychiatry**, v. 51, n. 1, p. 8-19, 1994.

KIM S. H.; et al. Antidepressant effect of Chaihu-Shugan-San extract and its constituents in rat models of depression. **Life Sciences** v. 76. p. 1297–1306, 2005.

KRONFOL, Z. Immune dysregulation in major depression: a critical review of existing evidence. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, v.5, p. 333–343, 2002.

LAFER, B; **Depressão no ciclo da vida**. Porto Alegre: Artemed, 2000.

LARINE, L. **Toxicologia**. São Paulo: Manole, 1987. 315 p.

LEAL, C. E. B. Depressão refratária: estudo clínico em quatro pacientes / Refractory depression: clinical study in four patients. **J. Bras. Psiquiatria**, v. 41, n.5, p.213-218, 1992.

LEAL, M. B.; MICHELIN, K.; SOUZA, D. O.; ELISABETSKY, E. Ibogaine attenuation of morphine withdrawal in mice: role of glutamate N-methyl-D-aspartate receptors. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 27, p. 781 – 785, 2003.

LIMA, D. R. **Manual de farmacologia** clínica, terapêutica e **toxicologia**. 2003. São Paulo, MEDSI, v.2, 2003. ISBN 8571992940

LI T. Z.; et al. Saponins from *Polygala japonica* and Their Effects on a Forced Swimming Test in Mice. **Journal of Natural Products**, 69, 591-594, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo, Instituto Plantarum, 2002. 512 p. ISBN 8586714186.

LUCKI, I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. **Behav Pharmacol** 8:523–532, 1997.

MARQUES-NETO, J. F.; LAPA, A.; KUBOTA, M. Efeitos do *Ageratum conyzoides* Linné no tratamento da artrose. **Rev. Bras. Reumat.**, v. 28, n. 4, p. 34-37. 1988.

MARTHA L. B. et al. Major Depression in Elderly Home Health Care Patients. **Am J Psychiatry**, v.159, p.1367–1374, 2002.

MALOW, B.A., et al. Spectrum of EEG abnormalities during clozapine treatment. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 91, p.205-211, 1994.

MARGOT E SILVA, M. J.; CAPAZ, F. R.; VALE, M. R. Effects of the Water Soluble Fractions from Leaves of *Ageratum conyzoides* on Smooth Muscle. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 130-132, 2000.

MASER, J. D.; DINGES, N. Comorbidity: meaning and uses in cross-cultural clinical research. **Cult Med Psychiatry**, v. 16, n. 4, p. 409-425, 1992-93.

MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P. Uso de plantas medicinais na gravidez. **Revista Brasileira de Farmacognosia**; v. 11, n. 1, p. 1-50, 2001.

MOURA, A. C. A.; et al. Antiinflammatory and chronic toxicity study of the leaves of *Ageratum conyzoides* L. in rats. **Phytomedicine**; v. 12, p. 138-142, 2005.

MENUT C. S.; SHARMA, S.; LUTHRA, C. Aromatic plants of tropical central Africa. **Flavour Fragrance J.**, v. 8, n. 1, p. 1-4. 1993.

MULLER, W.E. et al. Hyperforin represents the neurotransmitter reuptake inhibiting constituent of *Hypericum* extract. **Pharmacopsychiatry** 31, p. 16–21, 1998.

MURRAY C. J. L, LOPEZ A. D. Global mortality disability and contribution of risk factors: global burden of disease study. **Lancet**; v. 349, p. 1436-42, 1997.

NAOMI M. S. **Apresentação e diagnóstico dos Transtornos Ansiosos e Depressivos Comórbidos**. Highlights, APA ,158 Anual Meeting, Atlanta: Geórgia, USA, 2005.

NEMEROFF C.B.; OWENS M.J. Treatment of mood disorders- **Nature neuroscience Supplement**. Vol. 5. November 2002

NEWALL, C. A.; PHILLIPSON, J.D.; ANDERSON, L. A. (Editor). **Plantas medicinais: guia para profissional de Saúde**. São Paulo, Premier, 2002. 308 p. ISBN 8586067296

NIERO, R. et al. Aspectos químicos e biológicos de plantas medicinais e considerações sobre fitoterápicos. In: BRESOLIN, I.M.B.; FILHO, V.C. (org). **Ciências farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos**, Itajaí, Univali, 2003, 239p.

OKUNADE, A. L. Review: *Ageratum conyzoides* L. Asteraceae. **Fitoterapia**, v.73, p. 1-16, 2002.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, M. K.; GARCIA, L. O. Caracterização farmacognóstica da droga e do extrato fluído de mentrasto, *Ageratum conyzoides* L. **Lecta**, v. 11, n. 1, p. 63-100. 1993.

PETROVICK, P.R.; MARQUES, L.C.; PAULA, I.C. New rules for phytopharmaceutical drug registration in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.66, p.51-55, 1999.

PORSOLT, R. D.; PICHON, M. L.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, p. 730-732, 1977.

Rang, H. P.; et al. *Farmacologia - H.P. Rang*. Trad.: Patricia Lydie Voeux, Antonio José Magalhães da Silva Moreira. Elsevier, 5. ed. Rio de Janeiro, 2004.

REGIER D.A.; NARROW, W. E.; RAE, D. S. The de facto US mental and addictive disorders service system: Epidemiologic Catchment Area prospective 1-year prevalence rates of disorders and services. **Arch Gen Psychiatry**, 50:85-94, 1993.

RICHELSON, E. Pharmacology of antidepressants-characteristic of the ideal drug. **Mayo Clin Proc**, v. 69, p.1069-1081, 1994.

RODE, D. Confrey toxicity revisited. **Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 11, p. 497 – 499, 2002.

RODRIGUES, E. Etnofarmacologia no Parque Nacional do Jaú, AM. **Rev. Bras. de Pl. Med.**; v.1 n.1, p. 01-14, 1998.

SAMPSON, J.H. et al. Ethnomedicinally selected plants as sources of potential analgesic compounds: indication of in vitro biological activity in receptor binding assays. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 24-29, 2000.

SAMY, R. P.; IGNACIMUTHU, S.; RAJA, D. P. Preliminary screening of ethnomedicinal plants from India. **J. Ethnopharmacology**, v. 66, p. 235-240. 1999.

SCHVARTSMAN, S. **Intoxicações agudas**. 3.ed São Paulo, Sarvier, 1991. 355 p.

SHANSIS, F. **Simpósio sobre Depressão: atualização no tratamento farmacológico dos transtornos depressivos**. AMRIGS.; 45 (3,4): 114-19, 2001.

SHIRWAIKAR, A.; et al. The gastroprotective activity of the ethanol extract of *Ageratum conyzoides*. **J. of Ethnopharmacol.**, v.86; p. 117-121, 2003.

SILVA M. J.; CAPAZ F. R.; VALE M. R. Effects of the soluble fraction from leaves of *Ageratum conyzoides* on smooth muscle. **Phytoter Res.**; v. 14; p. 130-132, 2000.

SIMÕES, C. M. O., et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed., Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003. 1102 p. ISBN 8570256825

SIMÕES, C.M.O.; et al.; **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1998. 172 p. ISBN 85-7025-443-1

SLATTERY, D. A.; HUDSON, D. J. **Nutt-antidepressant mechanisms**. Publishing Fundamental & Clinical Pharmacology; 2004.

STAHL S. M. Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. **J. Affect. Disord**, v. 51, p. 215– 235, 1998.

SOERJATO, D. D. Biodiversity prospecting and benefit sharing: perspectives from the field. **J. Ethnopharmacol.**, v.51, p. 01-15, 1996.

STERU, L., et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology** v. 85, p. 367– 370, 1985.

SHULZ, V. Clinical trials with hypericum extracts in patients with depression: results, comparisons, conclusions for therapy with antidepressant drugs. **Phytomedicine**, v. 9, n. 5, p. 468-474. 2002.

STRAKOWSKI, S. M. et al. Chronology of comorbid and principal syndromes in first-episode psychosis. **Compr. Psychiatry**, v. 36, n. 2, 106-112, 1995.

TEUFEL-MAYER, T.; GLEITZ, J. Effect of longterm administration of Hypericum extracts on the affinity and density of the central serotonergic 5-HT1 and 5-HT2 receptors. **Pharmacopsychiatry**, v. 30, Suppl. 2, p.113–116, 1997.

TVMED, video-cd simpósio int. de suicídio: avanços e atual./04-vcd1, r.Estela, 515 B.I.E cj.101 - 10º, SP

UNB. <http://www.unb.br/> retirado dia 10 de junho de 2006.

USTUN, T. B, SARTORIUS, N, editors. **Mental illness in primary care: international study**. New York, John Wiley & Sons, 1995.

VASWANI, M.; LINDA F. K.; RAMESH, S. Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.27, p. 85– 102, 2003.

XIA, Q.; et al. Formation of DHP-derived DNA adducts from metabolic activation of the prototype heliotridine-type pyrrolizidine alkaloid, lasiocarpine. **Revista Cancer Lett.**, v. 231, p.138-145, 2006.

XUAN, T.D., et al. Assessment of phytotoxic action of *Ageratum conyzoides* L. (billy goat weed) on weeds. **Crop Protection**; v.23, p. 915-922, 2004.

YAMAMOTO et al. Pharmacological screening of *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasito). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 145-147.1991

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó, SC: UNOESC, 2001. 523 p.

YEREVANIAN, B.I.; et al. Antidepressants and suicidal behaviour in unipolar depression. **Acta Psychiatr Scand**, v.110, p. 452–458, 2004.

ZIMMERMAN, M.; MCDERMUT, W.; MATTIA, J. I. Frequency of anxiety disorders in psychiatric outpatients with major depressive disorder. **Am J Psychiatry**, v. 157, n. 8, p. 1337-1340, 2000.

ZHANG Z. Q.; et al. The effect of *Morinda officinalis* How, a Chinese traditional medicinal plant, on the DRL 72-s schedule in rats and the forced swimming test in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 72, p.39–43, 2002.

ANEXOS

ANEXO 1 – LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química dos Alcalóides Pirroizidínicos.....	23
Figura 2 - <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Asteraceae).....	27
Figura 3 - Licopsamina – Alcalóide pirrolizidínico.....	35
Figura 4 - Equinatina – Alcalóide pirrolizidínico.....	35
Figura 5 - Efeito do extrato hidroalcoólico de <i>A. conyzoides</i> sobre o tempo de imobilidade no nado forçado	42
Figura 6 - Efeito do extrato hidroalcoólico de <i>A. conyzoides</i> sobre o tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda	43
Figura 7 - Efeito do extrato hidroalcoólico de <i>A. conyzoides</i> sobre o tempo de permanência na barra no modelo do rota-rod	44
Figura 8 - Efeito da administração do extrato hidroalcoólico de <i>A. conyzoides</i> sobre a atividade locomotora espontânea	45
Figura 9 - Efeito da administração aguda do extrato hidroalcoólico de <i>A. conyzoides</i> sobre a atividade espontânea no teste de toxicidade aguda em camundongos fêmeas.	46
Figura 10 - Efeito da administração aguda do extrato hidroalcoólico de <i>A. conyzoides</i> sobre a atividade espontânea no teste de toxicidade aguda em camundongos machos.	47
Figura 11 - Efeito da administração aguda do extrato hidroalcoólico de <i>A. conyzoides</i> sobre os parâmetros comportamentais indicativos de toxicidade em camundongos fêmeas ...	48

Figura 12 - Efeito da administração aguda do extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* sobre os parâmetros comportamentais indicativos de toxicidade em camundongos machos ... 49