

Avaliação dos efeitos depressores centrais do extrato etanólico das folhas de *Synadenium umbellatum* Pax. e de suas frações em camundongos albinos

Rodrigo Borges de Oliveira^{1,3}, Marcus Vinícius Mariano Nascimento¹, Marize Campos Valadares¹, José Realino de Paula¹, Elson Alves Costa², Luiz Carlos da Cunha^{1*}

¹Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás,²Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, ³Diretoria de Patentes, Instituto Nacional da Propriedade Industrial

O *Synadenium umbellatum* Pax. (Euphorbiaceae) é uma planta nativa da África tropical conhecida como “cola-nota”, “avelós”, “cancerola”, “milagrosa”, dentre outros. A planta é utilizada pela população brasileira como detentora de propriedades antiinflamatória, analgésica, dentre outras. Foram avaliados os efeitos depressores sobre o sistema nervoso central (SNC) do extrato etanólico das folhas de *Synadenium umbellatum* (EES) e de suas frações - hexânica (FH), clorofórmica (FC) e metanol/água (FM). Vários testes foram utilizados em camundongos machos albinos (*Mus musculus*), dentre eles, o sono induzido por barbitúrico, campo aberto e o teste do rota-rod. O EES foi testado nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg, enquanto que a FH foi testada na dose de 10 mg/kg, a FC na dose de 20 mg/kg e a FM na dose de 25 mg/kg. O EES e as frações FH e FC, mas não a FM, apresentaram um possível efeito depressor sobre o SNC, visto que foram capazes de aumentar o tempo parado e diminuir o número de bolos fecais no campo aberto, além de potencializarem o sono induzido por barbitúrico. No teste do rota-rod, observou-se que o EES e as frações não foram capazes de causar incoordenação motora ou relaxamento muscular. Assim, conclui-se que o extrato etanólico e as frações FH e FC do *Synadenium umbellatum* Pax. possuem possível efeito depressor sobre o SNC.

Unitermos

- Extrato etanólico
- *Synadenium umbellatum*
- Sistema nervoso central

*Correspondência:

L. C. Cunha
Universidade Federal de Goiás
Faculdade de Farmácia
Praça Universitária Esq. c/ 1a
Avenida, Qd. 62
Setor Universitário
74605-220 – Goiânia – GO, Brasil
E-mail: lccunha@farmacia.ufg.br

INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são freqüentemente utilizadas com o intuito de substituir ou auxiliar as terapias convencionais no tratamento de várias doenças. Entre outros fatores, a preferência na utilização das plantas medicinais decorre da facilidade de obtenção e do baixo custo. Porém, sabe-se que as plantas medicinais apresentam ampla diversidade de metabólitos secundários com diferentes ativida-

des biológicas (Farnsworth *et al.*, 1985; Simões *et al.*, 2003), justificando a necessidade de um aprofundamento no conhecimento das propriedades farmacológicas das espécies vegetais e suas possíveis utilizações no desenvolvimento de medicamentos.

Apesar da preferência das grandes indústrias farmacêuticas pelo desenvolvimento de medicamentos pela via sintética, nas últimas décadas observa-se ainda grande in-

teresse do mercado pelo potencial terapêutico das plantas medicinais (Calixto *et al.*, 2000; Koehn, Carter, 2005). Tal fato é comprovado pela evidência de que hoje cerca de 25% dos fármacos prescritos no mundo são obtidos direta ou indiretamente de plantas. Além disso, cerca de 49% dos fármacos desenvolvidos entre 1981 a 2002 foram obtidos a partir de produtos naturais, ou análogos semi-sintéticos ou ainda compostos sintéticos baseados em produtos naturais (Koehn, Carter, 2005).

Nesse contexto, o Brasil é um país privilegiado, pois ocupa o primeiro lugar dentre os 17 países mais ricos do mundo em biodiversidade, detendo cerca de 23% do total de espécies existentes no planeta (Rates, 2001). A imensa variedade de espécies de plantas, animais e microrganismos existentes no ecossistema brasileiro, sem dúvida, apresenta um importante diferencial para o desenvolvimento de medicamentos (Kato, 2001).

A espécie botânica *Synadenium umbellatum* Pax. (Euphorbiaceae) conhecida como “cola-nota”, “avelós”, “cancerola”, “milagrosa” etc, tem sido utilizada pela população brasileira como analgésico, antiinflamatório, antineoplásico, dentre outras utilizações (Ortêncio, 1997).

Uma avaliação preliminar das atividades farmacológicas gerais do extrato etanólico dessa planta mostrou uma redução da atividade motora além de uma alienação aos estímulos ambientais pelos animais tratados com as maiores doses pela via oral. Esses efeitos foram mais evidentes após uma hora da administração do extrato. Desta forma, este trabalho objetivou avaliar os efeitos dos tratamentos com esses extratos, bem como suas frações, nas respostas comportamentais dos animais que pudessem justificar uma possível ação depressora no SNC.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta, identificação e herborização da planta

Folhas de *S. umbellatum* (17 kg) foram coletadas no bairro Feliz, Goiânia-GO, Brasil, no verão de 2005/2006. O material botânico foi identificado pelo Professor Dr. José Realino de Paula, professor adjunto de farmacognosia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás (UFG). Uma excisata foi mantida no Herbário da UFG sob número UFG-27160. As folhas foram secas a 40 °C em estufa com circulação de ar por 48 horas e trituradas em moinho de facas.

Preparação do extrato etanólico

O extrato etanólico de *S. umbellatum* (EES) foi obtido por maceração em álcool etílico 95% P.A. na pro-

porção 1:5, sob agitação por 5 horas, seguido por filtração. A extração foi repetida, por mais duas vezes, para se garantir o esgotamento das substâncias extraíveis pelo álcool etílico e, em seguida, os filtrados foram misturados. O filtrado foi evaporado em rotaevaporador a 40 °C sob pressão reduzida a fim de se concentrar o extrato, obtendo-se 90 g de EES, o correspondente a um rendimento de 6,9%.

Eliminação de clorofila e fracionamento do extrato etanólico

Esta etapa foi realizada de acordo com Ferri (1996) com algumas modificações. Massa de 45 g de EES concentrado foi dissolvido em metanol a 4 °C e deixado em repouso a 4 °C por 18 horas. Em seguida, a solução foi filtrada. Ao filtrado, foi adicionada água destilada a 4 °C até que uma solução 7:3 fosse obtida. A solução resultante foi filtrada sobre Celite e particionada em *n*-hexano (1:1) por agitação em funil de separação por 3 vezes. A fração hexânica foi reservada e a solução de metanol/água foi então particionada com clorofórmio (1:1) por agitação em funil de separação por 3 vezes. A fração clorofórmica foi separada da fração metanol/água. Em seguida, as frações hexânica (FH), clorofórmica (FC) e metanol/água (FM) foram, individualmente, submetidas à rotaevaporação a 40 °C a fim de se evaporar os solventes e concentrar as frações. Após a evaporação do metanol da fração metanol/água, a solução resultante foi liofilizada. Assim, o EES (45 g) forneceu três frações: uma fração hexânica (FH), uma fração clorofórmica (FC) e uma fração metanol/água (FM) com rendimentos de 4%, 11,5% e 12,3%, respectivamente.

Extrato, frações e fármacos

Para todos os ensaios, uma solução de EES a 10 mg/mL foi preparada imediatamente antes dos experimentos e, a partir dessa solução, foram feitas sucessivas diluições a fim de se obter concentrações de 10, 5 e 2,5 mg/mL. Soluções das frações hexânica, clorofórmica e metanol/água também foram preparadas imediatamente antes dos experimentos, nas concentrações de 1, 2 e 2,5 mg/mL, respectivamente. As soluções do extrato e das frações hexânica e clorofórmica foram sempre preparadas imediatamente antes do seu uso com salina (NaCl 0,9%) e Tween-80 3%. A solução da fração metanol/água foi preparada da mesma forma, porém não requereu a utilização do Tween-80. Outros fármacos usados foram diazepam e pentobarbital sódico (solubilizados em salina).

Animais

Os animais utilizados, neste estudo, foram camundongos albinos (*Mus musculus*) machos, pesando entre 25 e 35 g, obtidos no Biotério da Indústria Química do Estado de Goiás (IQUEGO). Os tratamentos dos animais com o veículo (grupo controle), extrato, frações ou diferentes substâncias foram sempre realizados em concentrações adequadas para a administração de um volume constante de 10 mL/kg. As administrações antecediam 60 minutos os testes de atividade farmacológica. Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura e iluminação (ciclo claro/escuro de 12 h), com água e ração *ad libitum*, permanecendo no laboratório por um período de adaptação de pelo menos uma hora antes dos experimentos, normalmente iniciados às 9 horas. Todos os experimentos foram desenvolvidos seguindo normas que envolvem cuidados com animais de laboratório.

Indução do sono por barbitúrico

Foram utilizados grupos de até 8 camundongos tratados previamente pela via oral com veículo (C), com EES (25, 50 ou 100 mg/kg), FH (10 mg/kg), FC (20 mg/kg), FM (25 mg/kg) ou com diazepam (5 mg/kg). Após 60 minutos dos tratamentos, os animais receberam pentobarbital sódico 50 mg/kg i.p. Foram cronometrados os tempos entre a perda e a recuperação do reflexo postural. Os resultados foram expressos com o tempo de recuperação (minutos) do sono de cada grupo experimental comparativamente ao grupo controle experimental (Carlini, Burgos, 1979).

Teste do campo aberto

Este teste foi baseado na metodologia descrita por Sielgel (1946) e validado por Archer (1973), e permite uma avaliação da atividade estimulante ou depressora de um dado composto, podendo ainda indicar atividades mais específicas como ação tipo ansiolítica. Foram utilizados grupos de 8 camundongos tratados previamente pela via oral com veículo (C), com EES (25, 50 ou 100 mg/kg), FH (10 mg/kg), FC (20 mg/kg), FM (25 mg/kg) ou com diazepam (5 mg/kg). Os animais foram colocados, 60 minutos após o tratamento, em um campo-aberto confeccionado em acrílico e foram observados durante 5 minutos, sendo avaliados a atividade exploratória dos animais (número total de cruzamentos), o número total do levantar, o número de auto-limpeza, o número de bolos fecais e o tempo em que os animais permaneceram parados.

Teste do *rota-rod*

Este método permite avaliar a especificidade da ação nociceptiva de fármacos, verificando se estas promovem incoordenação motora dos animais, seja por sedação e/ou por relaxamento muscular (Rosland, Hunskaar, Hole, 1990). Grupos de sete camundongos foram colocados no *rota-rod* 60 minutos após os tratamentos com veículo (C), EES (25, 50 ou 100 mg/kg), FH (10 mg/kg), FC (20 mg/kg), FM (25 mg/kg) ou diazepam (5 mg/kg), sendo avaliados o número de quedas e o tempo de permanência na barra giratória. O número máximo de quedas permitidas foi de 3 sendo que, após a terceira, o animal não mais era reconduzido no *rota-rod*. O tempo máximo de permanência permitido no *rota-rod* foi de 1 minuto.

Análise estatística

Os resultados foram dados como médias \pm erro padrão das médias (EPM). As diferenças estatísticas entre os grupos experimentais foram detectadas pela análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Turkey. O teste t de *Student* também foi utilizado para comparação das médias entre dois grupos experimentais. Considerou-se como valores significativos aqueles cujo $P < 0,05$.

RESULTADOS

Indução do sono por barbitúrico

O EES foi capaz de potencializar o sono induzido por barbitúrico. Os camundongos tratados com veículo tiveram um tempo de recuperação do sono de $27,5 \pm 4$ min. Os animais tratados com EES (25, 50 ou 100 mg/kg, p.o), tiveram os tempos de recuperação do sono aumentados em 77,3%, 125,4% e 129,1%, respectivamente. Os animais tratados com FH (10 mg/kg) e FC (20 mg/kg) tiveram os tempos de recuperação do sono aumentados em 102,3% e 63,1%, respectivamente, enquanto os tratados com FM (25 mg/kg) não tiveram o tempo de recuperação do sono aumentado. Os animais tratados com diazepam (5 mg/kg) – fármaco padrão – tiveram um tempo de sono aumentado em 282,1%. Os dados estão representados nas Figuras 1 e 2.

Teste do campo aberto

O EES e as frações não alteraram a movimentação espontânea dos camundongos. Este efeito foi demonstrado pelo número total de cruzamentos em 5 minutos no campo aberto. O EES e a FC, porém, da mesma maneira que o diazepam, aumentaram o tempo parado, enquanto o EES,

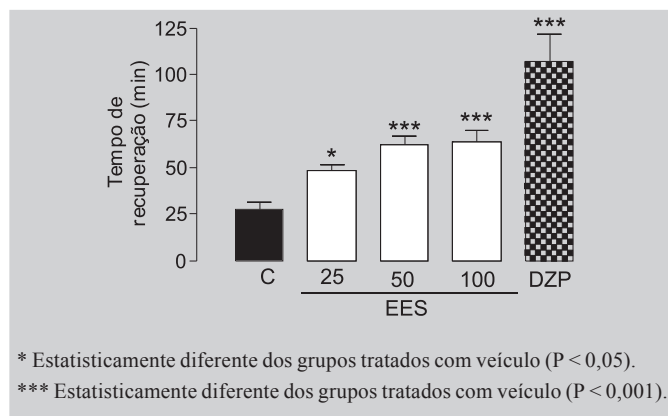


FIGURA 1 - Tempo de recuperação do reflexo postural (duração do sono), em minutos, no teste de indução do sono por barbitúrico, em camundongos previamente tratados (60 min) pela via p.o. com veículo (C; n=8), com o extrato etanólico das folhas do *S. umbellatum* (EES; 25, 50 ou 100 mg/kg, n=8) ou diazepam (DZP; 5 mg/kg, n=6). As colunas e barras verticais representam as médias \pm EPM.

FH e diazepam diminuíram o número de bolos fecais. O teste também mostrou que o EES e as frações FH, FC e FM não alteraram o número total do levantar nem o número de auto-limpeza. O grupo diazepam (5mg/kg) – fármaco padrão –, porém, teve o número total do levantar diminuído, mas não apresentou alterações no número de auto-limpeza. Os resultados estão dispostos na Tabela I.

Teste do rota-rod

O EES ou as frações FH, FC ou FM não alteraram a atividade motora dos camundongos enquanto os animais

TABELA I - Número total de cruzamentos, número total do levantar, número de auto-limpeza, número de bolos fecais e tempo parado (segundos), no campo aberto 60 minutos após o tratamento com veículo (C), extrato etanólico de *S. umbellatum* (EES 25, 50 ou 100 mg/kg), FH (10 mg/kg), FC (20 mg/kg), FM (25 mg/kg) ou diazepam (DZP, 5 mg/kg). Os resultados são das médias \pm EPM (n = 8)

	Número total de cruzamentos	Número total do levantar	Número de auto-limpeza	Número de bolos fecais	Tempo parado (segundos)
C	44 \pm 3	16 \pm 2	47 \pm 8	3 \pm 1	28,6 \pm 3,5
EES 25	52 \pm 3	16 \pm 2	61 \pm 10	1 \pm 0**	67,2 \pm 7,5*
EES 50	45 \pm 5	10 \pm 2	32 \pm 9	1 \pm 0**	120,3 \pm 12,7***
EES 100	48 \pm 8	14 \pm 3	50 \pm 9	1 \pm 0**	103,8 \pm 16,9***
FH 10	40 \pm 6	15 \pm 2	62 \pm 13	1 \pm 0*	20,4 \pm 11,8
FC 20	35 \pm 5	11 \pm 1	42 \pm 12	2 \pm 1	102,1 \pm 25,9**
FM 25	27 \pm 7	9 \pm 2	54 \pm 12	2 \pm 0	46,2 \pm 17,7
DZP	40 \pm 8	6 \pm 1*	26 \pm 6	0,00 \pm 0,00***	183,6 \pm 9,1***

* Estatisticamente diferente dos grupos tratados com veículo (P < 0,05).

** Estatisticamente diferente dos grupos tratados com veículo (P < 0,01).

*** Estatisticamente diferente dos grupos tratados com veículo (P < 0,001).

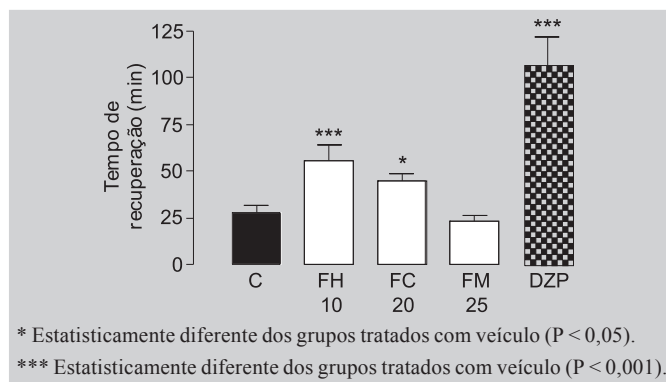


FIGURA 2 - Tempo de recuperação do reflexo postural (duração do sono), em minutos, no teste de indução do sono por barbitúrico, em camundongos previamente tratados (60 min) pela via p.o. com veículo (C; n=8), com as frações hexânica (FH, 10 mg/kg, n=8), clorofórmica (FC, 20 mg/kg, n=8), metanol/água (FM, 25 mg/kg, n=8) ou diazepam (DZP; 5 mg/kg, n=6). As colunas e barras verticais representam as médias \pm EPM.

tratados com diazepam (5 mg/kg) apresentaram diminuição da mesma. Os resultados estão dispostos na Tabela II.

DISCUSSÃO

No teste do campo aberto, cinco parâmetros foram avaliados: o número total de cruzamentos, que avalia a atividade exploratória do animal, que pode ser afetada por fármacos com ação no SNC ou relaxantes musculares periféricos; o número total do levantar, número de auto-limpeza e o tempo parado, que avaliam o grau de sedação ou medo (ansiedade) e podem ser alterados por fármacos com

TABELA II – Número de quedas e tempo de permanência no *rota-rod*, 60 minutos após o tratamento com veículo (C), extrato etanólico de *S. umbellatum* (EES 25, 50 ou 100 mg/kg), FH (10 mg/kg), FC (20 mg/kg), FM (25 mg/kg) ou diazepam (DZP, 5 mg/kg). Os resultados são das médias \pm EPM (n = 7)

	Número de quedas	Tempo de permanência (s)
C	0,1 \pm 0,1	60 \pm 0,0
EES 25	0,6 \pm 0,2	60 \pm 0,0
EES 50	0,7 \pm 0,4	60 \pm 0,0
EES 100	1,0 \pm 0,2	60 \pm 0,0
FH 10	0,4 \pm 0,2	60 \pm 0,0
FC 20	0,3 \pm 0,2	60 \pm 0,0
FM 25	0,3 \pm 0,3	60 \pm 0,0
DZP	2,0 \pm 0,4*	40 \pm 9,5*

* Estatisticamente diferente dos grupos tratados com veículo ($P < 0,05$).

atividade ansiolítica/ansio gênica; bem como o número de bolos fecais, que pode ser alterado por diferentes grupos de fármacos, tais como ansiolíticos, ansio gênicos, dentre outros, como espasmolíticos ou espasmogênicos (Archer, 1973; Siegel, 1946). O EES, nas doses utilizadas, não alterou o número total de cruzamentos, descartando uma ação do EES, nas doses utilizadas, na atividade locomotora dos animais. O tempo parado, porém, foi diminuído, o que é sugestivo de uma atividade depressora mais específica no SNC, sugerindo uma ação ansiolítica sem comprometimento motor, que ainda deve ser melhor investigada através de outras metodologias, tais como o labirinto em cruz elevado ou caixa claro/escuro. O número de bolos fecais diminuído pode também sugerir uma ação ansiolítica. Nesse parâmetro, efeito falso-positivo pode ser descartado com o uso de diferentes modelos, tal como a avaliação da velocidade de trânsito intestinal pelo método do carvão ativado.

Ainda no teste do campo aberto, as frações FH, FC e FM não alteraram, com significância estatística, o número total de cruzamentos, o número total do levantar, nem o número de auto-limpeza, resultado semelhante ao observado com o EES, que também mostrou que as frações não alteraram a atividade locomotora dos animais. O tempo parado só foi aumentado pela FC, enquanto o número de bolos fecais só foi diminuído pela FH. Estes foram os únicos parâmetros alterados, tanto pelo EES como pelas frações.

A fim de verificar a atividade depressora do sistema nervoso central (SNC), utilizou-se o modelo de indução de sono por barbitúrico. Nesse modelo, substâncias que deprimem o SNC, em geral, aumentam a duração do sono pro-

duzido pelo pentobarbital, podendo haver também uma redução na latência para o efeito do barbitúrico utilizado visto pela redução no tempo de indução, ou seja, desde a aplicação do barbitúrico até a perda do reflexo postural pelo animal. No entanto, resultados na latência são mais bem observados com derivados barbitúricos de maior polaridade que normalmente apresentam uma latência maior facilitando essa observação. Fatores que interfiram na velocidade de absorção podem apresentar resultados falso-positivos nessa metodologia. Ligante de sítios localizados nos receptores GABAérgicos do tipo A (Chweh, Swinyard, Wolf, 1987; Lancel, 1999), como os benzodiazepínicos, apresentam esse efeito, evidenciado principalmente pelo prolongamento da duração do sono induzido por agentes hipnóticos, o que foi bem observado nos resultados obtidos, quando o diazepam promoveu aumento do tempo de sono induzido por barbitúrico.

Por meio dos dados obtidos, observou-se que o EES (25, 50 e 100 mg/kg), e as frações FH e FC, mas não a fração FM, foram capazes de potencializar o sono induzido por barbitúrico, sugerindo um efeito depressor do SNC do EES e das frações FH e FC. Esse efeito depressor do SNC observado no EES e nas frações FH e FC ainda foram confirmados pelos dados obtidos através do método do campo aberto. A confirmação da ação depressora pelo uso de outra metodologia foi necessária, pois o aumento na duração de sono induzido por barbitúrico pode ser devido a alterações em parâmetros farmacocinéticos do agente hipnótico, mais provavelmente na biotransformação ou excreção desse composto, podendo diminuir sua disponibilidade central. Caso o extrato e suas frações não mostrassem efeito depressor com outras metodologias além do modelo de sono induzido por barbitúricos, seria necessária a avaliação com método do sono com intervalo de 24 horas entre o tratamento com o extrato e o barbitúrico. A manutenção do efeito de aumento no tempo de duração de sono poderia sugerir interações farmacocinéticas que justificassem o efeito depressor observado.

No teste do *rota-rod*, o pré-tratamento dos animais com o EES e com as frações FH, FC e FM não modificou o número de quedas, nem o tempo de permanência dos camundongos no *rota-rod*, excluindo as influências motoras, ou seja, tanto o EES quanto as frações, nas doses aqui utilizadas, não causam incoordenação motora em doses capazes de promover uma ação depressora central sugestiva de efeito ansiolítico.

As doses das frações administradas foram o equivalente ao dobro da maior dose utilizada com o EES (100 mg/kg), entretanto, em termos percentuais, o EES na dose de 100 mg/kg foi capaz de potencializar a ação do pentobarbital mais do que as frações FH e FC, sugerindo que o efeito das frações FH e FC sejam aditivos.

Os efeitos depressores do SNC das frações FH e FC condizem com as características químicas das substâncias nelas presentes, visto que o *n*-hexano arrasta substâncias de baixa polaridade e o clorofórmio arrasta substâncias de polaridade intermediária. Assim, como é sabido, para uma ação no SNC, as substâncias têm que penetrar a barreira hematoencefálica e somente moléculas de baixa polaridade tendem a atravessá-la, como o que parece ter acontecido com as frações FH e FC. Além disso, a fração FM, que possui moléculas de alta polaridade, não apresentou efeito depressor do SNC.

CONCLUSÕES

Os dados do presente estudo nos permitem concluir que o EES e as frações FH e FC, mas não a FM, nas doses aqui utilizadas, são capazes de causar depressão do SNC, sem, porém, alterar a coordenação motora dos animais, sugerindo uma atividade tipo ansiolítica de moléculas que podem ser arrastadas com solventes de menor polaridade. Estudos posteriores devem ser realizados para purificar tais moléculas e buscar identificar os mecanismos de ação envolvidos neste efeito.

ABSTRACT

Evaluation of the central depressor effects of the ethanolic extract of the leaves of *Synadenium umbellatum* Pax. and its fractions in Swiss mice

Synadenium umbellatum Pax. (*Euphorbiaceae*) is a native plant from tropical Africa known as “cola-nota”, “avelós”, “cancerola”, “milagrosa”, among others. The plant is used by Brazilian folks for having anti-inflammatory and analgesic properties, among others. It was evaluated the depressor effects over the central nervous system (CNS) of the ethanolic extract of the leaves of *Synadenium umbellatum* (EES) and its fractions – hexane (HF), chloroformic (CF) and methanol/water fractions (MF). Several tests were used in Swiss mice (*Mus musculus*), among them, barbiturate-induced sleep, open field and rota-rod test. The EES was tested at 25, 50 and 100 mg/kg doses, while the HF was tested at 10 mg/kg dose, the CF at 20 mg/kg dose and the MF at 25 mg/kg dose. The EES and the HF and the CF fractions, but not the MF, have presented a possible depressor effect over the CNS once they were able to increase the stop time and decrease the number of fecal boli on the open field, besides they were able to potencialize the barbiturate-induced sleep. The rota-rod test showed that the EES and the fractions were not able to cause motor

incoordination or muscle relax. Therefore, we conclude that Synadenium umbellatum Pax. *have a possible depressor effect over the CNS.*

UNITERMS: *Ethanolic extract. Synadenium umbellatum. Central nervous system.*

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Apoio à Pesquisa (FUNAPE), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Universidade Federal de Goiás (UFG) e à Indústria Química do Estado de Goiás (IQUEGO), pelo apoio financeiro, fornecimento de animais e bolsas outorgadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Anim. Behav.*, v.21, n.2, p.205-235, 1973.
- CALIXTO, J.B.; BEIRITH, A.; FERREIRA, J.; SANTOS, A.R.; FILHO, V.C.; YUNES, R.A. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phytother. Res.*, v.14, n.6, p.401-418, 2000.
- CARLINI E.A.; BURGOS, V. Screening farmacológico de ansiolíticos: Metodologia laboratorial e comparação entre diazepam e clorobenzepam. *Rev. Ass. Bras. Psiquiatria*, v.1, p.25-31, 1979.
- CHWEH, A.Y.; SWINYARD, E.A.; WOLF, H.H. Hypnotic action of pentobarbital in mice: a possible mechanism. *Exp. Neurol.*, v.97, n.1, p.70-76, 1987.
- FARNSWORTH, N.R.; AKERELE, O.; BINGEL, A.S.; SOEJARTO, D.D.; GUO, Z. Medicinal plants in therapy. *Bull. World Health Organ.*, v.63, n.6, p.965-981, 1985.
- FERRI, P.H. Química de produtos naturais: métodos gerais. In: DI STASI, L.C. (Ed.). *Plantas medicinais: arte e ciência - um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo: Fundação Editora Unesp, 1996. cap. 10, p.129-156.
- KATO, M.J. Global phytochemistry: the Brazilian approach. *Phytochemistry*, v.57, n.5, p.621-623, 2001.
- KOEHN, F.E.; CARTER, G.T. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.*, v.4, n.3, p.206-20, 2005.

- LANCEL, M. Role of GABAA receptors in the regulation of sleep: initial sleep responses to peripherally administered modulators and agonists. *Sleep*, v.22, n.1, p.33-42, 1999.
- ORTÊNCIO, W.B. *Medicina popular do Centro-Oeste*. 2. ed. Brasília: Theasaurus, 1997. 464p.
- RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. *Toxicon*, v.39, n.5, p.603-613, 2001.
- ROSLAND, J.H.; HUNSKAAR, S.; HOLE, K. Diazepam attenuates morphine antinociception test-dependently in mice. *Pharmacol. Toxicol.*, v.66, n.5, p.382-386, 1990.
- SIELGEL, P.S. A simple electronic device for the measurement of gross bodily activity of small animals. *J. Psychol.*, v.21, p.227-236, 1946.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., (Ed.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2003. 1102p.

Recebido para publicação em 08 de novembro de 2006

Aceito para publicação em 02 de junho de 2008