



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**NATHALIA LIBERATO NASCIMENTO**

**ESTUDO DO EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA E REPETIDA DO  
ÓLEO ESSENCIAL DE *Alpinia zerumbet* (OEAZ) EM MODELOS ANIMAIS DE  
CONVULSÃO**

**FORTALEZA/CE**  
**2013**

**NATHALIA LIBERATO NASCIMENTO**

**ESTUDO DO EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA E REPETIDA DO  
ÓLEO ESSENCIAL DE *Alpinia zerumbet* (OEAZ) EM MODELOS ANIMAIS DE  
CONVULSÃO.**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Danielle Silveira Macêdo.

**FORTALEZA/CE  
2013**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

- 
- N196e Nascimento, Nathalia Liberato.  
Estudo do efeito da administração aguda e repetida do óleo essencial de *alpinia zerumbet* (oeaz) em modelos animais de convulsão. / Nathalia Liberato Nascimento. – 2013.  
113 f.: il. color., enc.; 30 cm.
- Dissertação (mestrado). – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Mestrado em Farmacologia, Fortaleza, 2013.  
Área de Concentração: Farmacologia.  
Orientação: Profa. Dra. Danielle Silveira Macêdo.
1. Epilepsia. 2. Convulsões. 3. Anticonvulsivantes. I. Título.

---

CDD 616.853

**NATHALIA LIBERATO NASCIMENTO**

**ESTUDO DO EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA E REPETIDA DO  
ÓLEO ESSENCIAL DE *Alpinia zerumbet* (OEAZ) EM MODELOS ANIMAIS DE  
CONVULSÃO**

Dissertação apresentada a Coordenação do Programa de Pós-graduação em Farmacologia como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

**Aprovada:** Fortaleza, 05 de abril de 2013.

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Danielle Silveira Macêdo (Orientadora)**  
**Universidade Federal do Ceará**

---

**Prof. Dr. André Férrer Carvalho**  
**Universidade Federal do Ceará**

---

**Prof. Dr. Carlos Clayton Torres Aguiar**  
**Universidade de Fortaleza**

### *Dedicatória*

*Dedico esta dissertação, em primeiro lugar, ao meu Senhor Jesus, pois sem Ele nada disso seria possível. Ele me deu coragem e vida para estudar, abriu as portas de algo que eu nem podia imaginar e esteve comigo durante todo este percurso, na forma de pessoas maravilhosas, as quais Ele me fez conhecer.*

*Dedico, ainda, aos meus pais e familiares que muito me encorajaram até aqui e que me dão suporte, amor e carinho para vencer todos os obstáculos. Ao meu marido, pela dedicação, compreensão e apoio. E, em especial, a memória da minha querida e amada avó “mamãe” que sempre me incentivou com seu grande amor e sempre se alegrou com cada uma de minhas conquistas, me estimulando a seguir em frente.*

***Obrigada!!!***

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar, pela oportunidade que Ele me deu de fazer o mestrado e também de conhecer tantas pessoas que encheram a minha vida de alegrias. Agradeço a Ele por tudo que aprendi e que vivi nestes dois anos como mestranda.

Agradeço a Dr<sup>a</sup> Danielle Macêdo pela a oportunidade e credibilidade que depositou em mim, me aceitando como orientanda, e, por todas às vezes que, gentilmente, tirou minhas dúvidas e facilitou as coisas para mim! Obrigada, professora, que Deus abençoe sua profissão cada vez mais!

Agradeço ao meu pai, José Maria do Nascimento, pelo exemplo de perseverança e pelo esforço alcançado de sempre me proporcionar o melhor nos estudos e na vida. Agradeço ao senhor por todo interesse, dedicação, carinho, amor e força que foram refletidos na minha dedicação aos estudos. Te amo, pai, obrigada por tudo!

Agradeço a minha mãe, Lucia Liberato Ribeiro, por estar o tempo inteiro ao meu lado, pelo cuidado e grande amor que me dá todos os dias, por todas as vezes que a senhora estudou junto comigo, me ensinou, mesmo sem entender do assunto, me encorajou, torceu, chorou e sorriu comigo, me deu conselhos e direções, foi me deixar e buscar na faculdade, muitas vezes a pé (longa caminhada!) e até por me ajudar nos experimentos. Te amo mãe, se hoje sou o que sou devo muito isso a senhora. Obrigada por tudo!

Ao meu querido Brunno por sua dedicação, amor e compreensão e, também, pela maneira paciente e carinhosa que me incentiva aos estudos, pelas vezes que me acalmou e me encorajou quando estava com medo de algo, pelas suas orações e pensamentos sempre positivos que me ajudam a seguir em frente. Obrigada por ser para mim um porto seguro de amor! Te amo, meu “amorzinho”!

Aos meus tios e primos que sempre estiveram na torcida, em especial, as minhas tias “mães” Dedé, Luzia e Mundinha que direta ou indiretamente sempre estiveram envolvida nos meus estudos, me dando muita força e lindas palavras de incentivo e ao

meu tio Antônio, que juntos fazem tudo que podem para me ver feliz! À minha “irmã” Wana e ao seu marido Hermano que sempre acompanham com muito orgulho e amor os meus estudos. À minha prima Yorkyza que também participa da minha vida com seu incentivo. Amo muito vocês!

À minha amiga irmã Amanda, que nestes 12 anos de amizade, sempre esteve presente nos bons e maus momentos da minha vida. Agradeço por todas as vezes que rimos e choramos juntas, que torcemos uma pela outra e que venci barreiras impulsionada por suas palavras de incentivo! Agradeço a Deus pela irmã que ele escolheu para mim!

Às minhas amigas Pureza e Patrícia e aos seus pais, Dona Rosangela e Seu Gutemberg, que sempre me amaram como irmã e filha e que também participaram das minhas conquistas com alegria, orgulho e carinho. Obrigada por este amor!

À minha amiga Fernandinha Yvelize, que em tão pouco tempo tornou-se alguém muito especial na minha vida (uma honra conhecer pessoas assim!). A sua alegria contagiante, a lealdade em suas amizades, o apoio e suporte que nos dá em todos os momentos, cativaram o meu coração! Obrigada pelos domingos perdidos fazendo aplicações nos meus animais e as incontáveis coisas que você fez e faz por mim! Agradeço a Deus pela sua vida! Obrigada, amiga!

Ao meu amigo João Henrique, agradeço por tudo que fez por mim, não só em relação ao mestrado, mas também com relação a bolsa e seus relatórios! Obrigada por ser este amigo maravilhoso que me fez dar boas risadas nestes dois anos de convivência! À minha amiga, Gersi, que perdeu alguns sábados fazendo meus experimentos, coisa que eu nunca vou esquecer! Continue sendo essa pessoa tão boa e prestativa a quem tive a honra de conhecer! Ao meu amigo Daniel Galdino que tantas vezes me ajudou nos meus experimentos! À Adriana que mesmo recém-chegada já me deu sua “mãozinha”! Galera, nem que eu quisesse encontraria palavras para agradecer a vocês por tudo!!!

À minha amiga Camila Nayane e seu noivo “Webinho”, que tão prestativamente me ajudaram em vários momentos, até mesmo no domingo. Obrigada pelos bons e

divertidos momentos compartilhados, não esqueçam que vocês têm muita participação nesta conquista!

Aos meus colegas do Mestrado de Farmacologia, agradeço pela amizade e companheirismo! João Vitor, Mara, Igor, Luciana Negreiros, Luciana Ximenes, Larisse, Celina, Taiana e tantos outros, com os quais compartilhei boas aulas e bons momentos.

Agradeço a todos os meus professores, colegas e técnicos da Neuro, os quais não tiveram seus nomes citados aqui, pois não caberiam nesta folha e seria injusto citar apenas alguns nomes! Saibam que vocês contribuíram para o meu crescimento e que estarão sempre na minha lembrança! Obrigada, Neuro!

Aos professores e funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, pela gentileza e dedicação com que realizam seus trabalhos. Aos funcionários do biotério, que por muitas vezes me ajudaram de incontáveis formas. Agradeço a todos!

Agradeço ainda, aos meus amigos, funcionários da farmácia em que trabalhei que me apoiaram e se alegraram com minha vitória, Patrícia, Flávio, Ivan, Eliel, Solange, Valéria, Renata, Cláudia, Maria e minha querida chefe Cristiane Fejjó!

A CAPES REUNI pelo apoio financeiro.

*“... se buscares a sabedoria como a prata e como  
a tesouros escondidos a procurares, então,  
entenderás o temor do Senhor e acharás  
o conhecimento de Deus.  
Porque o Senhor dá a sabedoria, e da sua boca  
vem à inteligência e o entendimento.”*

***Provérbios 2.4-6***

## RESUMO

**Estudo do efeito da administração aguda e repetida do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (OEAZ) em modelos animais de convulsão. NATHALIA LIBERATO NASCIMENTO. Orientador(a): Prof<sup>ma</sup>: Danielle Silveira Macêdo. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC, 2013.**

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2011), a epilepsia é uma das mais comuns doenças neurológicas graves, afetando mais de 50 milhões de pessoas em todo o mundo. A principal manifestação clínica de algumas epilepsias é a convulsão. Esta pode ser estudada em modelos animais pelo uso de diferentes estímulos. O Pentilenotetrazol (PTZ) é um antagonista GABA que mimetiza crise de ausência e convulsões do tipo tônico-clônica em humanos. A Estricnina bloqueia a resposta inibitória da glicina, que age através de um receptor que se assemelha ao receptor GABA<sub>A</sub>. A Pilocarpina (PILO) é um agonista colinérgico que mimetiza epilepsia do lobo temporal em humanos. O Eletrochoque (ECS) é um procedimento que consiste na indução de convulsões generalizadas pela passagem de corrente elétrica pelo cérebro. *Alpinia zerumbet*, da família zingiberacea é uma espécie conhecida no Brasil por colônia que vem mostrando importantes efeitos depressores no SNC já estudados por nosso grupo de pesquisa. O presente trabalho tem como objetivo investigar os efeitos da administração aguda e repetida do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (OEAZ) em modelos animais de convulsão em camundongos (machos) por via intraperitoneal nas doses de 100 e 200 mg/Kg. OEAZ em tratamento agudo no modelo de PTZ 85 mg/kg, apresentou efeito neuroprotetor, tanto em latência de convulsão (LC) quanto em latência de morte (LM), apenas na dose 100 mg/kg. Já em modelo de ESTRIC, em tratamento agudo, as duas doses estudadas mostraram efeito anticonvulsivante. Em modelo de PILO agudo nenhuma das doses ofereceu qualquer efeito neuroprotetor. No ECS, observa-se efeito anticonvulsivante, com relação à redução no tempo de estiramento, em ambas as doses comparadas ao controle. No entanto, após administração repetida por cinco dias o OEAZ apresentou efeitos anticonvulsivantes em todos os parâmetros analisados de todos os testes de indução de convulsão, prolongando LC e LM com relação ao grupo controle, podendo esta ação estar diretamente ligada aos constituintes do óleo, como monoterpenos.

**Palavras – chave:** Epilepsia, convulsões, anticonvulsivante, *Alpinia zerumbet*.

## ABSTRACT

**Study of the effect of acute and repeated administration of the essential oil of *Alpinia zerumbet* (OEAZ) in animal models of seizures. NATHALIA LIBERATO NASCIMENTO. Orientador(a): Prof<sup>ª</sup>: Danielle Silveira Macêdo. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC, 2013.**

According to the World Health Organization (WHO, 2011), epilepsy is one of the most common serious neurological diseases, affecting over 50 million people worldwide. The main clinical manifestation of some epilepsy is seizures. Seizures can be studied in animal models by using different stimuli. The pentylenetetrazol (PTZ) is a GABA antagonist that mimics absence seizures and tonic-clonic seizure in humans. The Strychnine blocks the inhibitory response of glycine, which acts via a receptor which resembles the GABAA receptor. The Pilocarpine (PILO) is a cholinergic agonist that mimics temporal lobe epilepsy in humans. The Electroshock (ECS) is a procedure which consists in induces the generalized seizures by the passage of electric current through the brain. *Alpinia zerumbet*, family zingiberacea is a specie known in Brazil as colony, showing significant CNS depressant effects already studied by our research group. The present study aims to investigate the effects of acute and repeated administration of the essential oil of *Alpinia zerumbet* (OEAZ) in animal models of seizures in mice (males) intraperitoneally at doses of 100 and 200 mg / kg. OEAZ in the acute treatment model PTZ 85 mg / kg, showed neuroprotective effect both in seizure latency (LC) and in death latency (ML), only at dose 100 mg / kg. On the other hand, when using model ESTRIC in acute treatment, both doses studied showed anticonvulsant effect. In a model of acute PILO none of doses offered any neuroprotective effect. In ECS was observed anticonvulsant effect with respect to reducing the time of stretching, at both doses, compared to the control. However, after repeated administration for five days the OEAZ showed anticonvulsant effects in all parameters of all tests seizure-inducing studied, prolonging LC and LM when compared with the control group, this action may be directly related to the constituents of the oil, as monoterpenes.

Keywords: Epilepsy, seizures, anticonvulsant, *Alpinia zerumbet*.

## ABREVIATURAS

%	Percentual
°C	Graus Celsius
μmol	Micromol
Ach	Acetilcolina
AChE	Enzima Acetiltransferase
AMPA	D-L- $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxalona-propionato
AMPC	Adenosina Monofosfato Cíclico
DZP	Diazepam
ChAT	Colina Acetiltransferase
C	Controle
Ca <sup>2+</sup>	Íons Cálcio
CCG	Convulsão Clônica Generalizada
Cl <sup>-</sup>	Íons Cloreto
DL50	Dose Letal Média
ECS	Estimulação Eletroconvulsiva
ECT	Eletroconvulsoterapia
ECTM	Eletroconvulsoterapia de Manutenção
EME	Estado de Mal Epiléptico
EO	Estresse Oxidativo
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio

ESTRIC	Estricnina
g	Gramma
GABA	Ácido Gama Aminobutírico
K <sup>+</sup>	Íons Potássio
kg	Quilograma
LC	Latência de Convulsão
LM	Latência de Morte
m	Metro
mg	Miligrama
ml	Mililitro
Na <sup>+</sup>	Íons Sódio
NMDA	N-metil-D-aspartato
OEAZ	Óleo Essencial de <i>Alpinia zerumbet</i>
PILO	Pilocarpina
PTZ	Pentilenotetrazol
RCM	Receptores Colinérgicos Muscarínicos
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
VALPRO	Valproato

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Receptor Muscarínico e Transmissão Colinérgica	<b>25</b>
<b>FIGURA 2.</b> Receptores GABA e Neurotransmissão GABAérgica	<b>27</b>
<b>FIGURA 3.</b> Receptores de Glutamato e Neurotransmissão Glutamatérgica	<b>29</b>
<b>FIGURA 4.</b> Estrutura química do ácido valpróico	<b>36</b>
<b>FIGURA 5.</b> <i>Alpinia zerumbet</i>	<b>38</b>
<b>FIGURA 6.</b> Principais constituintes do óleo essencial das folhas de <i>Alpinia zerumbet</i> utilizado no estudo.	<b>47</b>
<b>FIGURA 7.</b> Teste das convulsões induzidas por PTZ 85 em tratamento agudo	<b>51</b>
<b>FIGURA 8.</b> Teste das convulsões induzidas por ESTRIC 2 em tratamento agudo	<b>51</b>
<b>FIGURA 9.</b> Teste das convulsões induzidas por PILO 400 em tratamento agudo	<b>52</b>
<b>FIGURA 10.</b> Teste das convulsões induzidas por ECT em tratamento agudo	<b>53</b>
<b>FIGURA 11.</b> Teste das convulsões induzidas por PTZ 85 em administração repetida	<b>54</b>
<b>FIGURA 12.</b> Teste das convulsões induzidas por ESTRIC 2 em administração repetida	<b>55</b>
<b>FIGURA 13.</b> Teste das convulsões induzidas por PILO 400 em administração repetida	<b>55</b>
<b>FIGURA 14.</b> Teste das convulsões induzidas por ECT em administração repetida	<b>56</b>
<b>FIGURA 15.</b> Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Pentilenotetrazol (PTZ 85 mg/kg, i.p.).	<b>59</b>
<b>FIGURA 16.</b> Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Pentilenotetrazol (PTZ 85 mg/kg, i.p.).	<b>60</b>
<b>FIGURA 17.</b> Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Estricnina (ESTRIC 2 mg/kg, i.p.).	<b>62</b>

**FIGURA 18.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Estricnina (ESTRIC 2mg/kg, i.p.). **63**

**FIGURA 19.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Pilocarpina (PILO 400 mg/kg, i.p.). **65**

**FIGURA 20.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Pilocarpina (PILO 400 mg/kg, i.p.). **66**

**FIGURA 21.** Efeitos do OEAZ (100 e 200mg/kg, i.p), e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a Latência de Convulsão induzida por Eletrochoque máximo. **68**

**FIGURA 22.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre tempo de estiramento (tempo de convulsão). **69**

**FIGURA 23.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Pentilenotetrazol (PTZ 85 mg/kg, i.p.) em administração repetida. **71**

**FIGURA 24.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Pentilenotetrazol (PTZ 85 mg/kg, i.p.) em administração repetida. **72**

**FIGURA 25.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Estricnina (ESTRIC 2 mg/kg, i.p.) em administração repetida. **74**

**FIGURA 26.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Estricnina (ESTRIC 2 mg/kg, i.p.) em administração repetida. **75**

**FIGURA 27.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Pilocarpina (PILO 400 mg/kg, i.p.) em administração repetida. **77**

**FIGURA 28.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Pilocarpina (PILO 400 mg/kg, i.p.) em administração repetida. **78**

**FIGURA 29.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão em administração repetida. **80**

**FIGURA 30.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre tempo de estiramento (tempo de convulsão) em administração repetida. **81**

## **LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA 1.</b> Classificação Internacional do diferentes tipos de crises epiléticas	<b>23</b>
<b>TABELA 2.</b> Modelos animais de convulsão e mecanismo de ação dos estímulos convulsivantes	<b>34</b>
<b>TABELA 3.</b> Grupos experimentais em tratamento agudo	<b>49</b>
<b>TABELA 4.</b> Tratamento agudo, desafio com drogas convulsivante e ECT	<b>50</b>
<b>TABELA 5.</b> Parâmetros Comportamentais	<b>50</b>
<b>TABELA 6.</b> Administração repetida e desafio com [m drogas convulsivante e ECT	<b>54</b>

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	19
1.1. Epilepsias .....	19
1.2. História da Epilepsia .....	19
1.3. Terminologia e classificação das convulsões epiléticas .....	21
1.4. Neurotransmissores e Epilepsia .....	23
1.4.1. Neurotransmissão Colinérgica .....	23
1.4.2. Neurotransmissão Gabaérgica .....	25
1.4.3. Neurotransmissão Glutamatérgica .....	27
1.4.4. Neurotransmissão Glicinérgica .....	29
1.5. Modelos experimentais de convulsões em animais .....	30
1.5.1. Eletrochoque (ECS) .....	32
1.6. Fármacos anticonvulsivantes .....	35
1.6.1. Benzodiazepínicos .....	36
1.6.2. Ácido Valpróico .....	36
1.7. <i>Alpinia zerumbet</i> .....	37
1.7.1. Aspectos Químicos da <i>Alpinia Zerumbet</i> .....	39
1.7.2. Usos na Medicina Popular .....	40
1.7.3. Atividades Farmacológicas .....	40
1.7.4. Toxicidade .....	43
1.8. Relevância e justificativa .....	44
2. OBJETIVOS .....	45
2.1. Objetivo Geral .....	45
2.2. Objetivos Específicos .....	45

3. METODOLOGIAS .....	46
3.1. Animais .....	46
3.2. Obtenção do óleo essencial da planta .....	46
3.3. Outras Drogas Utilizadas .....	48
3.4. Estudo dos efeitos comportamentais do OEAZ em tratamento agudo	48
3.4.1. Teste das convulsões induzidas por Pentilenotetrazol (PTZ) em tratamento agudo .....	51
3.4.2. Teste das convulsões induzidas por Estricnina (ESTRIC) em tratamento agudo .....	51
3.4.3. Teste das convulsões induzidas por Pilocarpina (PILO) em tratamento agudo .....	52
3.4.4. Teste das convulsões induzidas por Eletrochoque em tratamento agudo .....	52
3.5. Estudo dos efeitos comportamentais do OEAZ em administração repetida .....	53
3.5.1. Teste das convulsões induzidas por Pentilenotetrazol (PTZ) em administração repetida .....	54
3.5.2. Teste das convulsões induzidas por Estricnina (ESTRIC) em administração repetida .....	55
3.5.3. Teste das convulsões induzidas por Pilocarpina (PILO) em administração repetida .....	55
3.5.4. Teste das convulsões induzidas por Eletrochoque em administração repetida .....	56
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	57
5. RESULTADOS .....	58
5.1. Teste das convulsões induzidas por Pentilenotetrazol 85 mg/kg (PTZ 85) em tratamento agudo .....	58
5.2. Teste das convulsões induzidas por Estricnina 2 mg/kg (ESTRIC 2) em tratamento agudo .....	61
5.3. Teste das convulsões induzidas por Pilocarpina 400 mg/kg (PILO 400) em tratamento agudo .....	64

5.4.	Teste das convulsões induzidas por eletrochoque (ECS) em tratamento agudo .....	<b>67</b>
5.5.	Teste das convulsões induzidas por Pentilenotetrazol 85 mg/kg (PTZ 85) em administração repetida .....	<b>70</b>
5.6.	Teste das convulsões induzidas por Estricnina 2 mg/kg (ESTRIC 2) em administração repetida .....	<b>73</b>
5.7.	Teste das convulsões induzidas por Pilocarpina 400 mg/kg (PILO 400) em administração repetida .....	<b>76</b>
5.8.	Teste das convulsões induzidas por Eletrochoque (ECS) em tratamento subcrônico .....	<b>79</b>
6.	DISCUSSÃO .....	<b>82</b>
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	<b>95</b>
8.	CONCLUSÃO .....	<b>96</b>
	REFERÊNCIAS .....	<b>97</b>

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 Epilepsias**

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2011), a epilepsia é uma das mais comuns doenças neurológicas graves, afetando mais de 50 milhões de pessoas em todo o mundo. Têm sido identificadas mais de 40 formas diferentes de epilepsia. As convulsões epiléticas geralmente comprometem de forma transitória a consciência, expondo, dessa forma, o indivíduo a lesões físicas e, interferindo na educação e no trabalho (GOODMAN & GILMAN, 2003). Também à epilepsia se associam problemas sociais e econômicos. Pode ser considerado um problema significativo de saúde pública (GOMES, 1997). Em recente estudo epidemiológico, foi encontrado 29% de prevalência de depressão em pacientes com epilepsia (BLUM, 2002).

### **1.2 História da epilepsia**

No decorrer da história, a epilepsia foi associada a possessões divinas e demoníacas, a doenças contagiosas ou à loucura, encontrando diferentes formas de definição, diagnóstico e tratamento. Do mesmo modo que a loucura, a epilepsia foi estigmatizada, perpetuando ideias que persistem até os dias de hoje. Em decorrência disso, muitos portadores podem ser vítimas do preconceito, fato que colabora para que numerosas pessoas tornem-se resistentes a admitir o diagnóstico ou a consentir em iniciar um tratamento adequado (LYONS & PETRUCCELLI, 1987).

Hipócrates, combatendo as superstições, conseguiu tratar as doenças por outra abordagem. Como exemplo, podemos citar os “ataques epiléticos” que foi demonstrado como sendo consequência de uma disfunção cerebral e não mais uma ação de raiva e vingança dos deuses sobre os homens. A compilação de suas escrituras intituladas “Hippocratic Collection” ou “Corpus Hippocraticum” no século IV a.C. foram reunidas na Biblioteca de Alexandria e continha princípios de Anatomia, Fisiologia, Patologia, Prognósticos, Cirurgia, Ginecologia, Ética, além de referências, de modo geral, às doenças mentais e estados emocionais de pacientes. Hipócrates reconhecia o cérebro como um órgão relacionado com o pensamento e a sensação (LYONS & PETRUCCELLI, 1987).

De acordo com Dreifuss (1996) em 175 d.C. Galeno reconheceu que a epilepsia era uma doença do cérebro e conseguiu classificar as epilepsias em dois tipos: as epilepsias de causas desconhecidas e as epilepsias que resultavam de outras doenças. Apesar das afirmações de Hipócrates e Galeno, as crenças em torno da epilepsia como possessão, maldição ou castigo perpetuaram por muito tempo. Na Grécia, a epilepsia era considerada como sendo uma possessão divina e os “possuídos” eram colocados em templos e passavam a ser vistos como sacerdotes. Acreditavam os gregos, que uma pessoa tinha convulsão por ser tocada pelos deuses.

No século XIX houve muitos avanços nas ciências biológicas especificamente na neurofisiologia, o que repercutiu nos estudos das patologias cerebrais e dentre elas a epilepsia (MOREIRA, 2004). Foram obtidos avanços significativos nas últimas décadas em técnicas cirúrgicas eficazes, métodos histoquímicos, imunológicos e de radioisótopos utilizados para mapear a distribuição de neurotransmissores centrais, sistemas enzimáticos e de seus receptores. O uso da neuroimagem estrutural possibilitou um maior sucesso na avaliação diagnóstica e no tratamento de diversas doenças. A ressonância magnética nuclear é um procedimento de imagem estrutural muito utilizado, ao lado da Tomografia Computadorizada. A tomografia por emissão de fóton único é uma técnica de neuroimagem funcional aplicada para investigação complementar da ressonância magnética nuclear e de estudos na tomografia por emissão de pósitrons (BERKOVICK & NEWTON, 1998).

A clonagem molecular também forneceu base importante para um maior entendimento de receptores, possibilitando assim uma abordagem terapêutica mais específica para tratar distúrbios do SNC. Apesar desses avanços, dos progressos das explorações para-clínicas, dos resultados obtidos da experimentação e até mesmo o conhecimento dos fatores genéticos que podem contribuir para a etiologia da epilepsia em cerca de 40% desses pacientes (GARDINER, 1999), os mecanismos responsáveis pelo fenômeno epiléptico não se encontram totalmente esclarecidos.

### 1.3 Terminologia e classificação das convulsões epiléticas

A expressão convulsão refere-se a uma breve alteração de comportamento causada pela ativação desordenada, sincrônica e rítmica de grupos de neurônios cerebrais. O termo epilepsia refere-se a um distúrbio da função cerebral caracterizado pela ocorrência periódica e imprevisível de convulsões. As crises convulsivas podem ser “não-epiléticas” quando provocadas no cérebro normal por tratamentos como o eletrochoque ou os convulsivantes químicos, ou “epiléticas” quando ocorrem sem estímulo evidente (GOODMAN & GILMAN, 2003).

Acredita-se que as convulsões se originem no córtex cerebral e não em outras estruturas do sistema nervoso central (SNC), como tálamo, tronco encefálico ou cerebelo (GOODMAN & GILMAN, 2003).

As convulsões epiléticas podem ser do tipo parcial simples (sem alterações na consciência) ou parcial complexa (com alterações na consciência). As crises podem ter início focal e posteriormente generalizarem (envolverem o cérebro como um todo), sendo nestes casos chamadas crises parciais complexas. As crises generalizadas são aquelas em que há o envolvimento, desde o início, de ambos os hemisférios cerebrais (ENGEL, 2001). As manifestações comportamentais de uma crise convulsiva são, geralmente, determinadas pelas funções habituais do local do córtex no qual se origina a convulsão. Por exemplo, uma convulsão que envolva o córtex motor se associa a um abalo clônico da parte do corpo controlada por essa região cortical. A convulsão parcial simples está associada com a preservação da consciência, enquanto que a convulsão parcial complexa está associada com o comprometimento da consciência. A maioria destas últimas tem origem do lobo temporal. Entre as convulsões generalizadas tem-se a crise de ausência, a convulsão mioclônica e a convulsão tônico-clônica como exemplos (GOODMAN & GILMAN, 2003).

As crises epiléticas podem se desenvolver com graus diferentes de envolvimento muscular. O evento motor consiste de um aumento ou diminuição da contração muscular. O aumento da contração muscular pode ser do tipo tônico (significando contração muscular mantida durante segundos ou minutos), clônico (contrações musculares, seguidas de relaxamentos gerando abalos musculares

sucessivos) ou mioclônico (contrações musculares muito breves, semelhantes a choques). A diminuição da contração muscular caracteriza as mioclonias negativas e as crises atônicas (ENGEL, 2001). Segundo a “Revisão terminológica e conceitual para organização de crises e epilepsias: Relato da Comissão de Classificação e Terminologia da ILAE, 2005-2009”, há três grupos de crises: as parciais ou focais, as generalizadas e as crises não classificáveis.

Crises parciais são aquelas nas quais, em geral, as primeiras manifestações clínicas e eletroencefalográficas indicam ativação de um sistema neuronal limitado à parte de um hemisfério cerebral. Na classificação das crises epiléticas, a consciência é entendida como a capacidade de responsividade e percepção consciente. Quando está alterada, diz-se que há comprometimento da consciência. O que distingue a crise parcial simples da complexa é o comprometimento da consciência na última. Na crise parcial complexa, admite-se o envolvimento hemisférico bilateral, principalmente das estruturas mesiais temporais durante o período de alteração da consciência.

A crise de ausência é caracterizada pela parada súbita das atividades associada a olhar fixo, durante cerca de 30 segundos e seguido de uma volta abrupta ao comportamento normal. Uma crise mioclônica consiste de uma breve contração dos músculos, como choques, podendo ser restrita à parte de uma extremidade ou generalizada. Uma crise tônica consiste de uma contração muscular mantida, enquanto uma crise clônica é caracterizada por períodos alternados de contração e relaxamento muscular; crises tônico-clônicas geralmente envolvem grupos de músculos ao longo do corpo, são associadas à perda de consciência e duram aproximadamente de 30 a 60 segundos. Um paciente propenso frequentemente exhibe tipos múltiplos de crise, em episódios epiléticos diferentes (MCNAMARA, 1994).

As crises generalizadas podem ser divididas em convulsivas (como as crises tônico-clônicas) e não convulsivas (ex: as crises de ausência, mioclônicas, tônicas de breve duração e atônicas). Se forem parciais serão classificadas de acordo com a localização do sítio de origem e de propagação dos sintomas dentro do córtex cerebral. Se estas ocorrerem com a manutenção da consciência, serão denominadas parciais simples e se, por outro lado, causarem prejuízo à consciência, serão denominadas crises parciais complexas.

A fisiopatologia da convulsão ainda não está completamente definida. Os modelos de convulsão em animais reproduzem alterações comportamentais e eletroencefalográficas que são semelhantes à crise convulsiva em humanos (BEN-ARI et al., 1980, 1981). Esses modelos são utilizados para estudar o envolvimento dos sistemas de neurotransmissores como moduladores da epileptogênese, como também permitem observar alterações comportamentais, histopatológicas, e outros dados neuroquímicos relacionados ao processo convulsivo (CAVALHEIRO et al., 1994; MARINHO et al., 1997, 1998, COSTA-LOTUFO et al., 2002).

**TABELA 1.** Classificação Internacional do diferentes tipos de crises epiléticas

<b>Crises Parciais (focais)</b>	
Crise parcial simples (com sintomas motores, sensoriais, autonômicos ou psicológicos)	
Crise parcial complexa	
Crise parcial complexa com generalização secundária	
<b>Crises Generalizadas (convulsivas ou não convulsivas)</b>	
Ausência	;
Mioclônicas	
Clônicas	
Tônicas	
Tônico-clônicas (grande-mal)	
Atônicas	
<b>Não Classificadas</b>	

Fonte: WESTBROOK, G.L. In: Kandel et al., 2000

## 1.4 Neurotransmissores e Epilepsia

### 1.4.1 Neurotransmissão Colinérgica

A acetilcolina (ACh) é um mediador químico de sinapses no sistema nervoso central (SNC), no sistema nervoso periférico (SNP) e também na junção neuromuscular. A Ach, seus receptores e o aparato enzimático responsável por sua síntese e degradação

constituem o sistema de neurotransmissão colinérgica (BRUNEAU, AKAABOUNE, 2006).

A administração periférica de altas doses do agonista muscarínico colinérgico pilocarpina produz convulsões em roedores (TURSKI et al., 1989; MARINHO et al., 1997). Assim, o processo convulsivo decorrente do tratamento de ratos com pilocarpina em doses convulsivas, parece depender da ativação dos receptores muscarínicos, podendo envolver o metabolismo dos fosfoinositídeos e sendo capaz de produzir lesões cerebrais e alterações comportamentais (MARINHO et al., 1997; 1998).

O sistema colinérgico tem como neurotransmissor a acetilcolina (ACh). Esta é um importante neurotransmissor excitatório no cérebro (NATHANSON et al., 1999; OLNEY et al., 1983 e 1986). A estimulação cerebral induzida pela ACh ocorre através da ativação dos receptores colinérgicos cerebrais, onde cerca de 99% destes são muscarínicos, e 1% são nicotínicos (PEPEU, 1983). Assim, a maioria dos efeitos de ativação colinérgica no cérebro é provavelmente devido à estimulação dos receptores colinérgicos muscarínicos (RCM).

A clonagem gênica revelou a existência de cinco tipos de receptores muscarínicos (M1, M2, M3, M4, e M5) (BONNER et al., 1987; LIAO et al., 1989; NATHANSON et al., 1999), sendo todos eles receptores acoplados à proteína G, onde os membros com numeração (M1, M3, e M5) atuam através da via do fosfato de inositol, enquanto os de numeração par (M2 e M4) operam inibindo a adenilato ciclase, portanto, reduzindo o AMPc intracelular (PERALTA et al., 1987 e 1988; HULME et al., 1990; WESS et al., 1990).

A ativação do receptor colinérgico muscarínico (Persinger et al., 1993; Marinho et al., 1998) foi sugerida como responsável pelas convulsões produzidas pela pilocarpina, dando a entender que após ativação do sistema colinérgico haveria uma interação direta e/ou indireta com outros sistemas, a saber: dopaminérgico (Al-Tajir et al., 1990a; Barone et al., 1991), glutamatérgico (Fujikawa et al., 1994 e 1995) e GABAérgico (FRITSCHY et al., 1999; ERAKOVIC et al., 2000; COSTA-LOTUFO et al., 2002), que podem ser ativados para a manutenção e/ou propagação das convulsões (FREITAS et al., 2003).

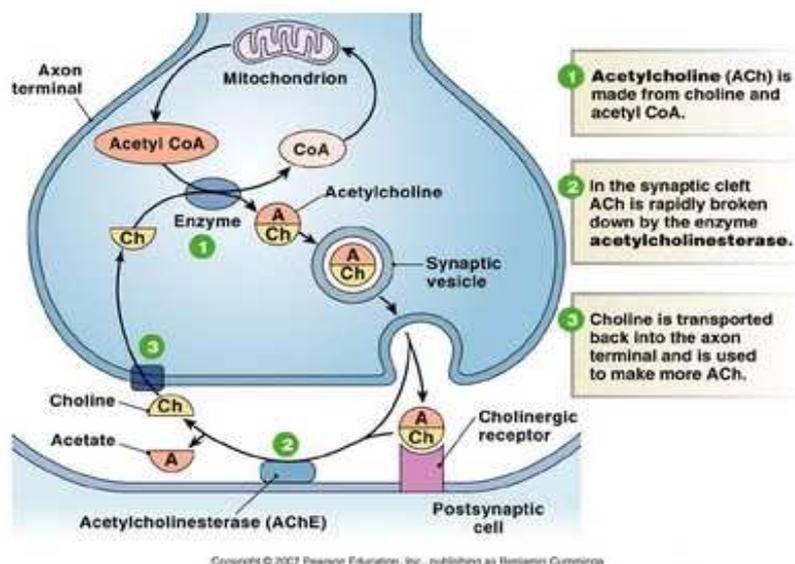


FIGURA 1. Receptor Muscarínico e Transmissão Colinérgica

Fonte: <http://chekhovsgun.blogspot.com/2009/12/cholinergic-hypothesis-of-depression.html>

### 1.4.2 Neurotransmissão Gabaérgica

O ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central de vertebrados. É sintetizado a partir do L-glutamato, numa reação de descarboxilação catalisada pela enzima glutamato descarboxilase (GAD), enzima encontrada apenas em neurônios que sintetizam este neurotransmissor no cérebro. Após ser sintetizado, o GABA é empacotado dentro de vesículas. Uma vez liberado na fenda sináptica, o GABA liga-se a seu receptor, causando hiperpolarização, devido influxo de  $\text{Cl}^-$  ou efluxo de  $\text{K}^+$ , no neurônio pós-sináptico (ROBERTS, 1976).

O GABA atua em dois tipos distintos de receptores:  $\text{GABA}_A$  e  $\text{GABA}_B$ . O receptor  $\text{GABA}_A$  consiste em um canal regulado por ligante, sensível ao cloreto e é antagonizado pela picrotoxina e bicuculina, ambas causando convulsões generalizadas (BORMANN, 1988; SILVIOTTI, NISTRÌ, 1991). Os receptores  $\text{GABA}_B$  são acoplados à proteína G e regulam canais de  $\text{K}^+$  que quando ativados reduzem a condutância ao cálcio ou ativam os canais de potássio (BORMANN, 1988; BOWERY, 1993).

Os receptores GABA<sub>A</sub> são os de maior importância por possuírem um papel central na regulação da excitabilidade cerebral, através de seus efeitos inibitórios, e, muitas drogas importantes, tais como benzodiazepínicos, apresentam vários efeitos relacionados com este receptor, tais como a sedação e a indução do sono, a redução da ansiedade e da agressão, a redução do tônus muscular e da coordenação, efeito anticonvulsivante, além de amnésia anterógrada. Estes efeitos dos benzodiazepínicos ocorrem através da potencialização da resposta ao GABA por facilitarem a abertura dos canais de cloreto ativados pelo GABA. Eles se ligam de um modo específico em um sítio regulador do receptor, distinto do sítio ligante do GABA, e agem de modo alostérico, aumentando a afinidade do GABA pelo receptor (BOWERY, 1993).

O receptor GABA<sub>A</sub> é um canal iônico acionado por ligante, consistindo de um aglomerado pentamérico, construído pela associação de 18 ou mais subunidades diferentes. A subunidade  $\alpha$  do complexo pentamérico ocorre em seis isoformas ( $\alpha 1$ - $\alpha 6$ ). Diferentes efeitos benzodiazepínicos podem, assim, estar ligados a diferentes subtipos de receptores de GABA<sub>A</sub>, sugerindo a possibilidade de desenvolvimento de novas substâncias com efeitos mais seletivos do que os benzodiazepínicos existentes (ROBERTS, 1976).

Alguns estudos sugerem o envolvimento do sistema GABAérgico na manutenção e/ou propagação da epilepsia humana (COSTA-LOTUFO et al., 2002). O sistema GABAérgico tem como neurotransmissor o GABA. O GABA está presente em todo o tecido cerebral, porém não em outros tecidos de mamíferos, exceto em quantidades mínimas. No cérebro é um importante neurotransmissor inibitório em quantidade abundante (aproximadamente 10 $\mu$ mol/g de tecido); no sistema nigroestriatal, porém, ocorre em concentrações menores (2 a 5 $\mu$ mol/g) em toda a substância cinzenta (LUDDENS & WISDEN, 1991).

As conexões GABAérgicas no hipocampo originam-se de ambos neurônios intrínsecos (interneurônios) e extrínsecos (projeções) (FREUND e BUZSÁKI, 1996). Neurônios contendo o GABA se constituem nos principais neurônios inibitórios no cérebro e são a vasta maioria dos interneurônios na formação hipocampal. Enquanto que os neurônios das camadas piramidais hipocampais são relativamente uniformes, os

interneurônios GABAérgicos são caracterizados por sua diversidade nas características morfológicas, químicas e fisiológicas. (FUKUDA et al., 1997).

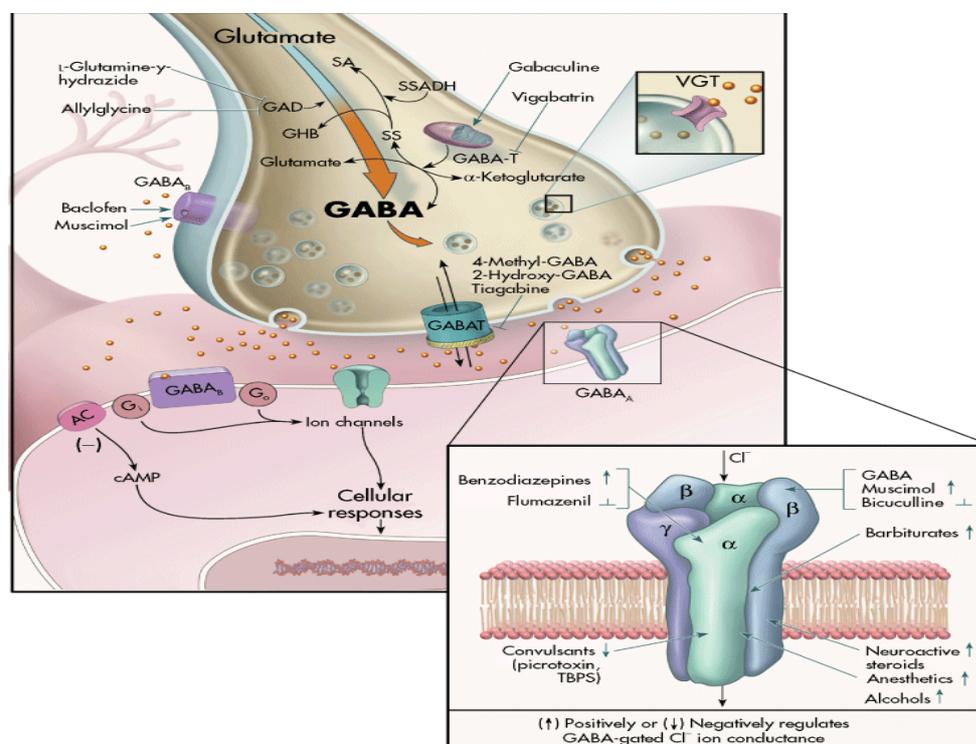


FIGURA 2. Receptores GABA e Neurotransmissão GABAérgica

Fonte: <http://psychiatryonline.org/content.aspx?bookid=29&sectionid=1348983>

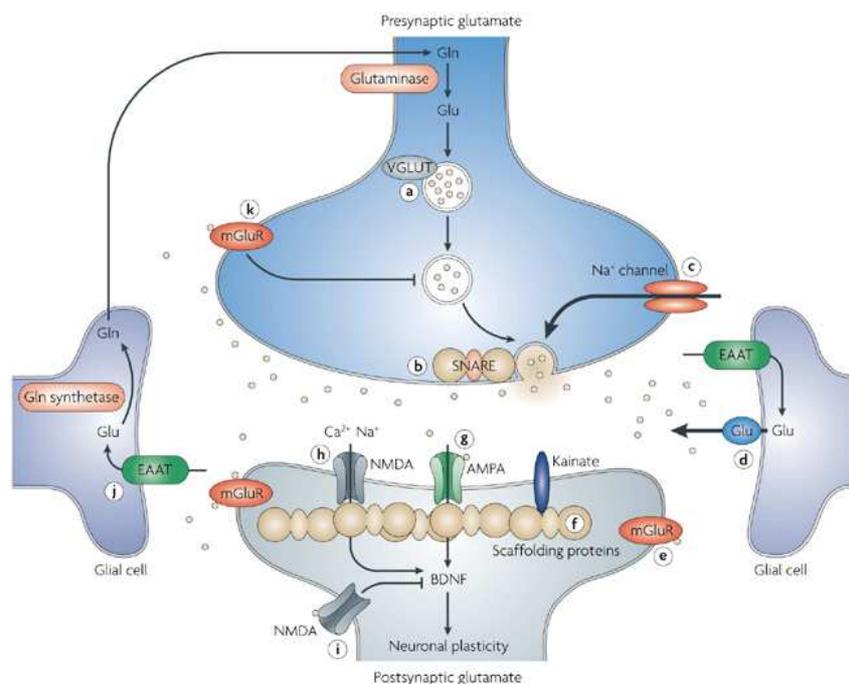
### 1.4.3 Neurotransmissão Glutamatérgica

O aminoácido glutamato, juntamente com o aspartato, é um dos mais abundantes neurotransmissores excitatórios no SNC de mamíferos (ATTWELL, 2000; MELDRUM, 2000; TAPIERO et al., 2002; TZSCHENTKE, 2002). Muitos estudos realizados ao longo dos últimos anos têm comprovado o papel da transmissão glutamatérgica no desenvolvimento neural, na plasticidade sináptica fisiológica (fundamental nos processos de aprendizado e memória), bem como na neuroplasticidade patológica (envolvendo reorganização sináptica e morte celular) observados em processos como: isquemia, hipoglicemia, epilepsia, doenças neurodegenerativas, dependência e tolerância a drogas, dor neuropática, ansiedade e depressão (MELDRUM, 2000; OTTERSEN & MATHISEN, 2000).

O glutamato é o neurotransmissor da via trissináptica que compreende desde o córtex entorrinal passando pelo giro denteado e CA3 para CA1 e o subículo. Há três famílias de receptores ionotrópicos para glutamato: receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), o qual intermedeia lenta excitação voltagem-dependente e tem maior importância para a potenciação a longo prazo; receptor D-L- $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxalona-propionato (AMPA), para excitação rápida; e o receptor cainato cuja função ainda não é clara em detalhes (ZILLES et al., 2000). Além disso, foi posteriormente estabelecido que o glutamato, também, se ligava a receptores metabotrópicos – um tipo de receptor acoplado a um sistema envolvendo a participação de proteínas G, que funciona através da liberação de segundos mensageiros, os quais ativam canais iônicos presentes na membrana (DANBOLT, 2001).

Os receptores NMDA, AMPA e cainato são canais iônicos que abrem após serem ativados aumentando o influxo de  $\text{Na}^+$  ou de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{++}$  (DANBOLT, 2001). Além disso, em situações patológicas em que o glutamato se acumula no espaço extracelular os receptores NMDA são implicados na neurotoxicidade glutamatérgica, conhecida como excitotoxicidade (MELDRUM, 2000). Alguns estudos indicam o envolvimento do sistema glutamatérgico no desenvolvimento e/ou na manutenção de crises convulsivas, as quais estão presentes no fenômeno epilético (MILLAN *et al.*, 1993, LING *et al.*, 2001).

As concentrações de glutamato, tanto no meio extracelular como na fenda sináptica, são estritamente controladas por mecanismos envolvendo enzimas e transportadores de glutamato em neurônios e células gliais (DANBOLT, 2001). Em algumas condições patológicas, tais como estado de mal epilético, isquemia e lesão traumática do cérebro e medula espinhal, esses mecanismos são ineficazes em manter as concentrações fisiológicas de glutamato no tecido neural e o nível deste neurotransmissor pode elevar-se várias vezes àqueles de condições de homeostase tecidual, levando à morte celular por excitotoxicidade. (CHOI, 1988; CHOI, 1994; FERRAGUTI, 2006).



Nature Reviews | Drug Discovery

FIGURA 3. Receptores de Glutamato e Neurotransmissão Glutamatérgica

Fonte: [http://www.nature.com/nrd/journal/v7/n5/fig\\_tab/nrd2462\\_F1.html](http://www.nature.com/nrd/journal/v7/n5/fig_tab/nrd2462_F1.html)

#### 1.4.4 Neurotransmissão Glicinérgica

A glicina é um aminoácido não essencial com uma estrutura bastante simples (NELSON, COX, 2000) e que desempenha dois papéis fundamentais no sistema nervoso central: um deles é como neurotransmissor químico, particularmente importante nas sinapses inibitórias da espinha medular e tronco cerebral (SIEGEL *et al.*, 1989) e o outro é como co-agonista da transmissão excitatória no cérebro através da ativação dos receptores NMDA (*N-metil-D-aspartato*), pertencentes à família dos receptores de glutamato, que apresentam uma resposta extremamente potenciada pela glicina (JOHNSON E ASCHER, 1987).

A glicina pode participar em diversos processos metabólicos e é sintetizada a partir da glicose, apesar do seu precursor imediato ser a serina. Vários estudos usando precursores radioativos sugerem que a grande maioria da glicina encontrada no cérebro é originada pela síntese *de novo* a partir da serina e não pelo transporte através do sangue (SIEGEL *et al.*, 1989).

Para a glicina são conhecidos, até ao momento, dois tipos de transportadores, o GlyT1 (glycine transporter 1), localizado na membrana dos astrócitos, (GUASTELLA et al., 1992) e o GlyT2 (glycine transporter 2) que existe na membrana dos terminais pré-sinápticos (LIU et al., 1993). Ambos promovem a entrada da glicina nas células acompanhada do co-transporte de íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) e  $\text{Cl}^-$  (ROUX, SUPPLISSON, 2000).

### 1.5 Modelos experimentais de convulsões em animais

Sabe-se que atividade convulsiva está associada a mudanças bioquímicas em algumas áreas cerebrais e afeta diversos neurotransmissores: dopamina, glutamato, serotonina, ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) (CAVALHEIRO et al., 1994); o metabolismo dos carboidratos; os sistemas de segundos mensageiros e a expressão gênica, processos envolvidos na fisiopatologia das alterações neuronais (SIMONIC et al., 2000).

Para a investigação de aspectos relacionados às convulsões, existem vários modelos experimentais em animais, que afetam sistemas como: Sistema Gabaérgico, Sistema Glutamatérgico, Sistema Colinérgico e as vias da Glicina que estão envolvidos na ocorrência de convulsões.

Desde a década de 1960, os modelos experimentais servem como *screening* farmacológico de drogas antiepilépticas (WHITE, 1997), contribuindo, paralelamente, com informações a respeito dos mecanismos envolvidos na gênese e manutenção das crises. De um modo geral, dois fatores são cruciais em estudos desta natureza: a escolha do modelo experimental e as drogas a serem estudadas.

Nas décadas de 80 e 90, dois modelos foram extensamente utilizados: o modelo da pilocarpina e o modelo do ácido caínico, e ambos replicam características fenomenológicas das epilepsias humanas do lobo temporal (TURSKI et al., 1983a; 1989). A administração local ou sistêmica desses compostos resulta em um padrão de crise límbica duradoura bastante característica (*status epilepticus*), que após um período conhecido como silencioso (de 3 a 14 dias), leva o animal a apresentar crises espontâneas e recorrentes (TURSKI et al., 1983a). A lesão cerebral induzida pelo *status epilepticus* nesses modelos pode ser considerada como equivalente a um evento epileptogênico no ser humano, como, por exemplo, uma convulsão febril.

O modelo de convulsões decorrentes da administração do agonista muscarínico, pilocarpina, em roedores assemelha-se, em muitos aspectos, à epilepsia “lobo-temporal”, “psicomotora” ou “límbica”, como, por exemplo, nos padrões eletroencefalográficos, comportamento e seqüelas morfológicas (LEITE et al., 1990; CAVALHEIRO et al., 1991).

A epilepsia do lobo temporal humana é uma desordem crônica, freqüentemente associada a um estímulo inicial precipitante como estado epiléptico, trauma e convulsões febris prolongadas (ENGEL; PEDLEY, 1997). É um dos distúrbios neurológicos mais comuns, apresentando taxa de prevalência de 5% (DELORENZO et al., 2001).

De uma maneira geral, as convulsões induzidas por pilocarpina podem produzir danos neuronais em diversas áreas e, especialmente, nas estruturas límbicas, causando perda neuronal no hipocampo, amígdala, córtex piriforme, córtex entorrinal, septum lateral, tálamo, neocórtex e substância negra, sugerindo o envolvimento de diferentes áreas durante o estabelecimento do processo epiléptico (BORELLI et al., 2002; CLIFFORD et al., 1987; HONCHAR et al., 1990; MARINHO et al., 1997; TURSKI et al., 1983a).

As convulsões induzidas pela administração sistêmica da estricnina consistem apenas de extensões tônicas. A estricnina é um potente convulsivante e atua, principalmente, como antagonista competitivo seletivo da inibição pós-sináptica mediada pela glicina. Sua principal ação é o aumento da excitabilidade reflexa da medula (QUINTANS-JÚNIOR & MELLO, 2006).

A estricnina atua especificamente em nível da medula espinhal, bloqueando o funcionamento dos neurônios inibitórios, as células de Renshaw, inibindo um receptor específico de glicina (SORACI *et al.*, 2001). Ela ainda faz a inibição da ação do neurotransmissor inibitório da glicina, na forma de antagonismo competitivo e reversível (ANDRADE, 2003; TILLEY *et al.*, 2003). Spinosa *et al.* (2008) explica que a estricnina possui estrutura semelhante à glicina, por isso, resulta em sinais nervosos e, ainda, na diminuição do efeito inibitório pós-sináptico do arco reflexo, causando uma excitação incontrolada do reflexo espinhal (ANDRADE, 2003, SORACI *et al.*, 2001). Os sinais de alterações clínicas por intoxicação com estricnina podem apresentar convulsões tetânicas violentas as quais podem ser desencadeada por estímulos físicos,

visuais e até sonoro (TILLEY et al., 2003; ANDRADE, 2003; NICHOLSON, 2004; SPINOSA et al., 2008).

O Pentilenotetrazol (PTZ) é uma das principais substâncias indutoras de convulsão que são utilizadas na triagem pré-clínica de novos fármacos anticonvulsivantes, podendo ser utilizada tanto como modelo de crises generalizadas do tipo ausência ou mioclônicas como de crises tônico-clônicas (QUINTANS-JÚNIOR & MELLO, 2006; SMITH et al, 2007). O PTZ atua inibindo os canais de cloreto associados aos receptores GABA (LÖSCHER et al, 1998). O desenvolvimento de benzodiazepínicos e barbitúricos no tratamento das crises convulsivas veio a partir de estudos com o PTZ (LÖSCHER & SCHMIDT, 1988).

### **1.5.1 Eletrochoque (ECS)**

O início do desenvolvimento da ECT foi em 1934, com o tratamento bem sucedido da catatonía e de outros sintomas esquizofrênicos empregando-se convulsões induzidas com monobrometo de cânfora (MEDUNA, 1985). Von Meduna utilizou esse método de tratamento com base nas observações prévias de que os sintomas esquizofrênicos frequentemente diminuía após uma convulsão e de que, conforme se supunha incorretamente, a esquizofrenia e a epilepsia não poderiam coexistir em um mesmo paciente, de modo que a indução de convulsões poderia “livrar” o paciente da esquizofrenia. A cânfora foi em seguida substituída por pentilenotetrazol, mas a agonizante fase de espera pela crise convulsiva e o mal estar profundo do paciente nesse período levam a procurar outros métodos de indução da crise convulsiva (THUILLIER, 1999). Posteriormente, em abril de 1938, Ugo Cerletti e Lucio Bini relataram que convulsões poderiam ser induzidas com segurança em humanos por um estímulo elétrico (CERLETTI, 1940), inaugurando assim o emprego médico da ECT. Os principais problemas associados à ECT foram os desconfortos dos pacientes devido ao procedimento e às fraturas decorrentes da atividade motora durante a convulsão. Essas intercorrências foram eliminadas pelo uso da anestesia geral e dos relaxantes musculares durante o procedimento (BUSNELLO, 1995).

No Brasil, Álvaro Murillo da Silveira introduziu a eletroconvulsoterapia em 1942, no Hospital Psiquiátrico São Pedro (Porto Alegre – RS), usando um aparelho

construído pelo engenheiro Olmiro Ilgenfritz (BUSNELLO, 1995). Nos anos 1960 e 70, há uma marcada diminuição na utilização da ECT, não só pelo advento da psicofarmacologia, mas principalmente pelo movimento antipsiquiátrico, que influenciou as elites universitárias gerando um sentimento de desconforto e raiva na sociedade contra as internações psiquiátricas e a psiquiatria de um modo geral. Nos Estados Unidos, houve uma queda de 46% no uso de ECT, entre os anos de 1975 a 1980 foi demonstrado em um levantamento do National Institutes of Mental Health (THOMPSON et al., 1994). Recomenda-se que a ECT seja realizada por centros de referência, em bloco cirúrgico com a presença de anestesista, psiquiatra e enfermeira, após criteriosa avaliação de sua indicação e riscos (ERANTI e MCLOUGHLIN, 2003). Atualmente, caracteriza-se claramente má prática médica, sua realização em enfermarias psiquiátricas com pacientes acordados ou apenas sedados, sem toda uma equipe técnica, investigação e preparação do paciente.

Os mecanismos de ação (eventos neurobiológicos implicados nos efeitos positivos) da ECT permanecem obscuros, isso não deve ser uma surpresa, visto que a informação sobre muitos transtornos psiquiátricos ainda é muito incompleta. Mais de cem teorias já propostas para explicar os benefícios terapêuticos do ECT. Elas variam de hipóteses de processos psicológicos e psicodinâmicos a alterações em neurotransmissores, efeitos neuroendócrinos, alterações em sistemas de segundos mensageiros e expressão gênica (SACKEIM, 1994). A problemática na identificação dos mecanismos de ação do ECT recai no fato de que o ECT afeta muitos sistemas no sistema nervoso central, além da dificuldade de definir neuroquimicamente as doenças para as quais é empregado. Dessa forma, a estimulação eletroconvulsiva (ECS), aplicada experimentalmente a animais tem sido largamente utilizada como um modelo de ECT (GREEN & NUTT, 1987). Os modelos de ECS crônico (3 a 8 seções) e agudo (1 seção) são rotineiramente publicados e aceitos como o equivalente animal da ECT em humanos (CERESER et al, 2006; WENNSTROM et al, 2006; HELLSTEN et al, 2005). Os parâmetros do estímulo elétrico são 150 volts, 60 hertz, por dois segundos. Choques dentro dessas especificações são capazes de induzir nos animais uma crise convulsiva tônico-clônica, generalizada, muito semelhante a que o procedimento de ECT induz em humanos (BARRICHELO et al, 2004).

**TABELA 2.** Modelos animais de convulsão e mecanismo de ação dos estímulos convulsivante

Estímulos convulsivantes	Modelos animais de convulsão	Mecanismo de ação
<b>Pentilenotetrazol (PTZ)</b>	Em modelo animal mimetiza ausência generalizada e/ou crises mioclônicas em humanos (LÖSCHER, 1998).	Inibe os canais de $Cl^-$ associados aos receptores GABA (LÖSCHER <i>et al.</i> , 1998). Diminui a função do GABA e estimula e modifica a densidade ou a sensibilidade de diferentes subtipos de receptores glutamato (WHITE <i>et al.</i> , 2007).
<b>Estricnina (ESTRIC)</b>	As convulsões induzidas pela administração sistêmica da estricnina consistem apenas de extensões tônicas (QUINTANS-JÚNIOR & MELLO, 2006).	Bloqueia principalmente, na coluna vertebral, a resposta inibitória da glicina, que age através de um receptor que se assemelha ao receptor GABA <sub>A</sub> (VAN DEN EYNDEN, 2009).
<b>Pilocarpina (PILO)</b>	Constitui um modelo de epilepsia do lobo temporal (PINHEIRO, 2002).	Exacerba a atividade colinérgica, provavelmente por influência direta, aumentando a ação da ACh circulante, modificando o <i>binding</i> dos receptores muscarínicos (HRUSKA <i>et al.</i> , 1984) e diminuindo a atividade acetilcolinesterásica (IMPERATO <i>et al.</i> , 1998).
<b>Eletrochoque (ECS)</b>	Induz nos animais uma crise convulsiva tônico-clônica, generalizada, muito semelhante a que o procedimento de ECT induz em humanos (BARRICHELO <i>et al.</i> , 2004).	Os mecanismos de ação da ECT permanecem obscuros. Elas variam de hipóteses de processos psicológicos e psicodinâmicos a alterações em neurotransmissores, efeitos neuroendócrinos, alterações em sistemas de segundos mensageiros e expressão gênica (SACKEIM, 1994).

## 1.6 Fármacos anticonvulsivantes

O controle da epilepsia é realizado com drogas, que são capazes de controlar até 80% dos casos, porém, cerca de 20% dos pacientes portadores desta condição possuem uma epilepsia não controlada, daí a necessidade da investigação de novas alternativas terapêuticas para o desenvolvimento de novos agentes capazes de controlar tal condição.

Atualmente, o tratamento farmacológico da epilepsia consiste na utilização de drogas capazes de potencializar a ação de neurotransmissores inibitórios, tais como o GABA, que, através da abertura dos canais aniônicos de cloreto, hiperpolariza a célula e, desta forma, impedindo ou minimizando o desenvolvimento de descargas elétricas mais fortes e recorrentes.

A grande maioria dos fármacos atualmente utilizados possui boa tolerabilidade, contudo os riscos de morbidade desenvolvidos pelo paciente podem ser, em alguns casos, drásticos. Os benzodiazepínicos consistem na maior classe de fármacos utilizados (principalmente no grande mal), e o diazepam, midazolam, e o bromazepam são os principais representantes desta classe que atuam facilitando a abertura dos canais de cloreto e, desta forma, potencializando as ações do GABA. Outra classe de fármacos são os barbitúricos, que também atuam potencializando os efeitos gabaérgicos e cujos representantes principais são o fenobarbital, muito utilizado em crises generalizadas e juvenis e o pentobarbital, comumente utilizado em modelos experimentais de indução de sono.

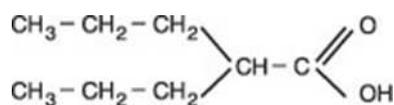
Pesquisas mostram que a epilepsia apresenta-se associada ao status epilepticus (SE) em 12% dos pacientes (JANZ, 1983), este corresponde a crises contínuas ou reentrantes, com duração superior a trinta minutos, sem que haja recuperação da consciência entre as crises (FUCHS et al., 2004). Após SE agudo sintomático, a chance de uma segunda convulsão é de aproximadamente 41% (HESDORFFER et al., 1998). Além disso, estudos retrospectivos indicam uma correlação entre epilepsia lobo temporal em pacientes adultos, ocorrência de convulsão e SE durante a infância desses pacientes (FALCONER, 1971; SAGAR e OXBURY, 1987). Se um episódio convulsivo inicial contribui para o desenvolvimento da epilepsia, o tratamento após a primeira

convulsão pode ser um fator de extrema importância para redução deste risco (MUSICCO et al., 1997; FUCHS et al., 2004).

### 1.6.1 Benzodiazepínicos

O diazepam, dado por via intravenosa, é usado para tratar o estado de mal epilético, afecção potencialmente fatal, na qual ocorrem crises epiléticas quase sem interrupção. Sua vantagem, nesta situação, é que atua muito rapidamente, em comparação com outros antiepiléticos. Como a maioria dos benzodiazepínicos, o efeito sedativo é pronunciado demais para que seja utilizado na terapia antiepilética de manutenção. A sedação é o principal efeito colateral destes compostos, e um problema adicional pode ser a síndrome de abstinência, que resulta em exacerbação das crises convulsivas se o fármaco for interrompido (RANG & DALE, 2007). Nos animais, a prevenção pelos benzodiazepínicos de convulsões induzidas por pentilenotetrazol é muito mais evidente do que sua modificação do padrão de convulsão máxima por eletrochoque. O clonazepam é surpreendentemente potente no antagonismo dos efeitos do pentilenotetrazol, mas é quase sem ação nas convulsões induzidas por eletrochoque máximo (GOODMAN & GILMAN, 2003).

### 1.6.2 Ácido Valpróico



**Ácido valpróico**

FIGURA 4. Estrutura química do ácido valpróico

Fonte: <http://www.infoescola.com/farmacologia/anticonvulsivantes-na-medicina-veterinaria/>

O ácido valpróico é bastante diferente de outras drogas, como a fenitoína ou a etossuximida, em relação à sua eficácia na inibição de convulsões em diversos modelos. Da mesma forma que a fenitoína e a carbamazepina, o valproato inibe a extensão tônica das patas traseiras nas convulsões máximas por eletrochoque e a ignição em doses

isenta de efeitos tóxicos. Tal como a etossuximida, o ácido valpróico inibe as convulsões motoras clônicas induzidas pelo pentilenotetrazol em doses subtóxicas. Sua eficácia em vários modelos é comparada a sua eficácia contra convulsões tônico-clônicas, parciais e generalizada em humanos (GOODMAN & GILMAN, 2003).

O ácido valpróico é eficaz no tratamento das crises de ausência, mioclônicas, parciais e tônico-clônicas. A dose inicial é, em geral, de 15 mg/kg, sendo aumentada a intervalos semanais em 5-10 mg/kg/dia até a dose máxima de 60 mg/kg. Devem ser administradas doses fracionadas quando a dose total ultrapassar 250 mg (GOODMAN & GILMAN, 2003). Neste trabalho, porém, a dose utilizada para modelo animal (camundongo swiss macho) foi de 200 mg/kg de animal.

### 1.7 *Alpinia zerumbet*

O gênero *Alpinia*, denominado assim em homenagem ao botânico italiano Prospero Alpini, faz parte da família Zingiberaceae que é a maior da ordem Zingiberales, constituída de 53 gêneros e mais de 1.200 espécies nativas de regiões tropicais, especialmente, do sul e sudeste da Ásia (CRONQUIST 1981; KRESS et al. 2002), expandindo-se através da África tropical até a América do Sul e Central (TOMLINSON 1969). Suas espécies, principalmente da floresta primária, crescem em habitats sombreados ou semi-sombreados, ricos em húmus (DAHLGREN et al. 1985).

A classificação atualmente aceita das Zingiberaceae (PETERSEN, 1889; SCHUMANN, 1904; HOLTUM, 1950 BURTT & SMITH, 1972; LARSEN et al., 1998) inclui quatro tribos (Hedychieae: 22 gêneros; Alpinieae: 25 gêneros; Zingibereae: um gênero e Globbeae: quatro gêneros) e baseia-se em características vegetativas e florais.

*Alpinia* Roxb. é o maior gênero da família Zingiberaceae com cerca de 230 espécies que ocorrem a partir de Sri Lanka, Índia, a China, Japão, sudeste da Ásia, do Pacífico (até ilhas Fiji, Samoa, e Caroline), Austrália, e no País de Gales (LARSEN et al., 1998; SMITH, 1990). A maioria das espécies crescem em florestas de baixa e média

altitudes formando hastes de 1-3 m de altura e pelo menos uma (*A. zerumbet* (Pers.) BL Burt & RM Sm.) é naturalizada nas regiões tropicais do mundo (Kress et al., 2002).

A *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt & Smith também citada na literatura científica com o binômio *Alpinia speciosa* K.Schum é muito cultivada pela beleza de suas flores (Joly 1993), e conhecida pelos nomes vulgares de colônia, paco-seroca, cuité-açu, pacová (Almeida,1993), gengibre-concha (LORENZI & SOUZA 1995), cardamomo-do-mato, cardamomo-falso, cana-do-brejo, cana-do-mato e paco-seroso (MACHADO 1996).



FIGURA 5. *Alpinia zerumbet*

Fonte: <http://belezabotanica.blogspot.com/2008/08/alpinia-zerumbet.html>

A colônia foi trazida para o Brasil no século XIX para o Jardim Botânico do Rio de Janeiro, onde recebeu o nome de flor-da-redenção e bastão-do-imperador, o qual, segundo se admite, se deve ao fato de terem sido usadas as flores dessa planta para presentear a princesa Isabel, logo após ter assinado a Lei Áurea, em 13 de maio de 1888 (CORRÊA, 1975).

Segundo Almeida (1993), as propriedades medicinais desta espécie estão relacionadas às folhas, flores e rizomas, sendo consideradas depurativas, diuréticas, anti-histéricas, estomáquicas e vermífugas. É ainda, utilizada por lavradores da região

de Ribeirão Preto (SP) no tratamento de reumatismo e males cardíacos (CARLINI 1972). Pesquisa de campo realizada em Ibiúna (SP) revelou o uso de colônia em afecções do aparelho respiratório, além do uso do rizoma triturado para o tratamento da crise asmática. Foi registrado, também o uso das flores conservadas em álcool e passadas na testa e nuca para combater dor de cabeça. A planta também é usada como sedativa no Pará, conforme pesquisa de Berg (1984). Ainda no mesmo Estado, a colônia, também conhecida por vindicá, é bastante utilizada entre a população de Marapanim, segundo Furtado (1978), na forma de chá da flor para dor no coração e na forma de banho para acalmar criança e aliviar a dor de cabeça. É considerada também planta de poderes mágicos, visto que é usada junto com canela e alecrim para tirar maus fluidos, mau-olhado e inveja.

### 1.7.1 Aspectos Químicos da *Alpinia Zerumbet*

O óleo essencial da planta *Alpinia zerumbet* contém substâncias como: cineol, eugenol, pineno, éter metílico, ácido cinâmico, cadineno, galangina, éter metílico de galangina, canferina, bassorina, amido, matérias mucilaginosas e resinosas (COIMBRA; DINIZ, 1943). Alpinetina, cardamonina, cânfora (BOTSARIS, 1995). Esterosídeos flavonóides (LOPEZ, 1992). Sesquiterpenos, fenilalquicetonas, compostos flavônicos, resina, taninos (FITOTERAPIA, 1998).

Trabalho realizado por Victório et al.,(2009) mostrou que o óleo essencial das folhas da planta analisado por cromatografia gasosa/espectrometria de massa apresenta uma grande porcentagem de monoterpenos oxigenados (52,5%). Os componentes principais foram terpinen-4-ol, 1,8 cineol e terpineno  $\gamma$ . Estes componentes foram encontrados em estudos com o óleo essencial de outras amostras de *A. zerumbet* (ZOGHBI et al., 1999; ELZAAWELY et al., 2007a; VICTÓRIO et al. 2009). Óxido de cariofileno também foi encontrado em pequenas quantidades. Como principais constituintes fenólicos de óleos essenciais e extratos das flores e sementes da *A. zerumbet*, o 1,8-cineol, a cânfora, o metil cinamato e o borneol foram os principais constituintes dos óleos essenciais das flores, enquanto que os principais componentes dos óleos das sementes foram o alfa-cadinol, T-muurolol, alfa-terpinenol, deltacadineno e o terpineno-4-ol. A análise da composição fenólica feita indicou que o ácido p-hidroxibenzóico, o ácido ferúlico e ácido siríngico foram os fenólicos predominantes no

extrato de acetato de etila das flores, enquanto o ácido p-hidroxibenzóico, o ácido 34 siríngico e a vanilina foram os principais fenólicos presentes nas sementes (ELZAAWELY et al., 2007a).

### 1.7.2 Usos na Medicina Popular

Na medicina popular o gênero *Alpinia*, pode ser usado para vários fins, tais como: diurética, carminativa, estomáquica, antiemética, espasmolítica, anti-inflamatória, antiofídica, vermífuga, no combate ao reumatismo e como tônico geral (CRUZ, 1965; ALMEIDA, 1993).

Pesquisa de campo realizada em Ibiúna-SP, revelou o uso da colônia em afecções do aparelho respiratório, além do uso do rizoma triturado que é dado a cheirar ao asmático em crise. Foi registrado, também o uso das flores conservadas em álcool e passadas na testa e nuca para combater dor de cabeça.

No Pará é usada como sedativa (BERG, 1984). É também considerada planta de poderes mágicos, visto que é usada junto com canela e alecrim para tirar maus fluidos, mau-olhado e inveja. Em Cuba, *Alpinia zerumbet*, é empregada em afecções da pele, na forma de decóctos das folhas e flores, aplicadas externamente (FUENTES & GRANDA, 1997).

Na República Dominicana, *Alpinia zerumbet*, é usada na forma de chá para combater a gripe, sem, contudo, ser mencionada a parte utilizada (LOPEZ et al., 1992). Na Espanha, são usados os rizomas em dismenorréia, na prevenção de vômitos e em mastigatórios nas odontalgias (FITOTERAPIA, 1998).

### 1.7.3 Atividades Farmacológicas

Pesquisa para a seleção das plantas mais usadas na medicina popular do Ceará, visando à recuperação de informações para o Banco de Dados de Plantas Medicinais do Sistema Único de Saúde (SUS), destaca a *A. zerumbet*, dentre as plantas classificadas como calmantes (MATOS, 1984). Nas Antilhas francesas o decocto das folhas é utilizado no tratamento do meteorismo, a infusão das folhas e flores como anticatarral e

o infusato das folhas como diurético. No Oeste da Índia, é usada para tratar dores de cabeça (STHELE e STHELE, 1958). No Japão, as sementes são utilizadas como estomáquicas (KIMURA et al., 1966).

Na pesquisa realizada por Keef (1986), apontou a *Alpinia* como uma detentora de efeitos vasodilatadores coronarianos, usada para tratamento do infarto do miocárdio e insuficiência coronariana.

Segundo Correa (1926), os rizomas triturados em forma de pó são utilizados como anti-diarréicos, no tratamento de úlcera gástrica, tosse e artrite. O rizoma em forma de decocto é usado no tratamento de cistite. As folhas em infusão para o tratamento da asma; micoses de pele, pêlos e unhas; como purificador sanguíneo; como anti-hipertensivo; calmante e antiestresse. Outras propriedades medicinais, tais como anti-histéricas, estomáticas e vermífugas relacionadas às folhas, flores e rizoma foram descritas por Almeida (1993).

Dentre as propriedades farmacológicas comprovadas para a *Alpinia zerumbet* destacam-se os efeitos hipotensor e levemente diurético obtidos através do chá das folhas, que foram confirmados pelos estudos de Mendonça et al., (1991) e Laranja et al., (1991, 1992). A atividade antimicrobiana comprovada para óleos essenciais da espécie varia segundo sua composição (WATTIEZ; STERNON, 1942).

O extrato metanólico do rizoma de *Alpinia zerumbet* possui atividade inibitória contra a contração induzida por histamina e cloreto de bário em íleo isolado de cobaia (ITOKAWA, et al., 1981a). De acordo com LEE et al., (1982) demonstração do extrato metanólico de sementes da referida espécie apresenta atividade antioxidante maior do que o butil-hidroxitolueno, enquanto o extrato hexânico mostrou não deter tais propriedades antioxidantes. Rizomas de *Alpinia zerumbet* detêm atividade antiulcerogênica e este efeito tem sido atribuído aos diterpenos e compostos fenólicos como 5,6-deiidrokavaina e diidro-5,6-diidro-kavaiana presente nesta planta (HSU, 1982, 1987).

Estudando a atividade antioxidante de espécies cultivadas em Okinawa (Japão) e utilizadas como comestíveis e medicinais, Masuda et al. (2002) comprovaram forte atividade redutora do radical 1.1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) promovida pelos

extratos do rizoma de *Alpinia zerumbet* e potente atividade inibitória da lipoperoxidação promovida por extratos de frutos e rizomas. Concluíram por uma potente capacidade antioxidativa para a espécie, já referida por eles em estudos quando isolaram antioxidantes do rizoma de *Alpinia zerumbet*. Em ensaios fitoquímicos realizados por Elzaawely et al ( 2007a; 2007b), foram isolados do óleo essencial, compostos fenólicos e dihidro-5,6- dehidrokawaina das folhas, rizomas, flores e sementes de *Alpinia zerumbet*, onde foi demonstrado que esses compostos apresentam uma atividade antioxidante.

A administração do extrato hidroalcolico de *Alpinia zerumbet* em animais, produziu excitação psicomotora, contorções, hipocinese, além de prolongar o tempo de sono (DI STASI, 2002). Nos estudos clínicos com o chá das folhas de colônia, os resultados apresentaram-se significativos quanto ao seu efeito diurético. No ensaio sobre a ação antiinflamatória, o extrato etanólico apresentou uma inibição do processo edematoso de 66% (SANTANA,1966). Foi identificada uma ação anticolinérgica competitiva que inibe a contração muscular (VANDERLINDE,1986). Segundo este autor, flores, folhas e rizomas são depurativas e diuréticas, anti-histérica, estomáquica e vermífuga.

Os efeitos centrais do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* só foram recentemente estudados através de dois trabalhos. Satou et al., (2010) demonstraram que após a inalação do OEAZ os camundongos apresentaram redução em parâmetros de ansiedade claramente evidentes principalmente no modelo do labirinto em cruz elevado (LCE). Da mesma forma, Murakami et al., (2009), mostraram que a inalação do OEAZ (0,087 e 8,7 ppm) apresenta efeito ansiolítico-símile no labirinto em cruz elevado. A inalação de 8,7 ppm do óleo também apresentou comportamento de salto nos animais, comportamento este parcialmente revertido pelo pré-tratamento com fluoxetina.

#### **1.7.4 Toxicidade**

Relevante estudo toxicológico pré-clínico foi realizado por Oliveira (2008), avaliou o perfil toxicológico e genotoxicológico do extrato aquoso e do óleo essencial das folhas de *Alpinia zerumbet*, além de estabelecer a DL50 do extrato aquoso. Segundo

Oliveira, o extrato aquoso e o óleo essencial não se mostraram citotóxicos e nem genotóxicos. A DL50 do extrato aquoso das folhas de *Alpinia zerumbet* foi  $> 5\text{g/Kg}$  demonstrando que os princípios ativos do extrato aquoso apresentam baixa toxicidade. Costa et al., (2007) testaram a atividade citotóxica dos extratos clorofórmicos, hexânicos e hidroalcoólicos em *A. zerumbet*, *Chenopodium ambrosioides* e *Acmella oleracea* sobre quatro linhagens celulares cancerígenas (HEp-2, NCI-H292, KB e HeLa). Os resultados mostraram ausência de citotoxicidade significativa para todos os extratos testados frente a estas linhagens celulares. No ano seguinte, dando continuidade aos estudos da atividade citotóxica de Az, Corrêa;Costa (2008) testaram os extratos acetônico e metanólico da espécie, sobre células HEp-2, NCIH292 e KB. Os resultados também mostraram ausência de citotoxicidade significativa para os extratos testados.

Estudo clínico realizado por Santana (2009), avaliou a segurança e potencial genotóxico do chá de *A. zerumbet* em voluntários saudáveis. Os voluntários foram tratados durante 28 dias ininterruptos com 540 ml de chá de Colônia ou Placebo. A genotoxicidade foi investigada mediante o emprego do teste do cometa. O estudo concluiu que o chá de colônia não apresenta toxicidade clínica nem genotoxicidade em voluntários tratados por 28 dias ininterruptos.

## 1.8 Relevância e justificativa

A epilepsia é uma condição neurológica grave de maior prevalência no mundo e que pode induzir a dificuldade na execução das atividades profissionais do paciente (GILLIAM et al., 2004).

Inúmeras pesquisas visam descobrir novas estratégias farmacológicas antiepiléptica através de novos compostos eficazes para a epilepsia de difícil controle ou de compostos com menor toxicidade para aquelas já tratadas pelo arsenal terapêutico atualmente disponível (BOECK et al., 2004; PISANI et al., 2004; EYAL et al., 2004).

Visto que a fisiopatologia da convulsão ainda não está completamente definida, os modelos de convulsão em animais são capazes de reproduzir alterações comportamentais e eletroencefalográficas que são semelhantes à crise convulsiva em humanos (BEN-ARI et al., 1980, 1981). Esses modelos são utilizados para estudar o potencial e a eficácia de novas drogas anticonvulsivantes.

Baseado no fato de que as plantas medicinais podem ser ferramentas importantes para o tratamento de algumas patologias, principalmente devido à sua baixa toxicidade e fácil acesso pela população, decidiu-se estudar os efeitos centrais *A. zerumbet*, uma vez que é popularmente usada como um sedativo sendo este efeito confirmado por nosso grupo de pesquisa (Araújo et al., 2009), além de ser uma planta presente na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Investigar os efeitos da administração aguda e repetida do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (OEAZ) em modelos animais de convulsão em camundongos.

### **2.2 Objetivos Específicos**

✓ Estudar os efeitos anticonvulsivantes do óleo essencial das folhas de *A. zerumbet*, (OEAZ) após tratamento intraperitoneal utilizando modelos experimentais para estudo de:

- Teste das convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ);
- Teste das convulsões induzidas com Estricnina (ESTRIC);
- Teste das convulsões induzidas com Pilocarpina (PILO);
- Teste das convulsões induzidas por Choque Eletroconvulsivo (ECS).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Animais

Para realização do presente estudo utilizaram-se camundongos Swiss machos, com peso de 20 a 30 g. Os animais foram provenientes do biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC), e mantidos em temperatura constante de 24°C e ciclo claro/escuro de 12 horas, com livre acesso a uma dieta padrão e água *ad libitum*, seguindo as recomendações internacionais (Conselho Canadense de Cuidado com Animais, 1993). Os procedimentos foram realizados em conformidade com o Manual de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, sendo que todos os esforços foram feitos para minimizar o sofrimento dos animais. O protocolo do estudo foi aprovado pelo comitê de Ética Animal da UFC com o número 45/10.

#### 3.2 Obtenção do óleo essencial da planta

O óleo essencial foi isolado das folhas de *Alpinia zerumbet* (OEAZ). A extração foi feita através de um extrator de óleo essencial e após este procedimento foi feita a sua análise por cromatografia para determinação dos seus componentes.

A exsicata da *Alpinia zerumbet* foi depositada no Herbário Prisco Bezerra (n° 10858), conforme identificado pelos doutores Edson Paula Nunes, e Martins Peres. O isolamento do óleo essencial foi realizado no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC, de acordo com o método descrito por Craveiro *et al.*, (1976). Para a extração do óleo essencial, as folhas da planta recém-cortada, foram colocadas em um frasco de vidro ao qual foi adicionada água destilada em quantidade suficiente para emergir todo material. A mistura foi submetida à ebulição através de um balão de vidro conectado a um condensador resfriado a água. A água foi aquecida por aproximadamente três horas. Após a condensação, a fase aquosa com seus solutos, aqui chamado de "hidrolato", foi separada de uma fase oleosa, por separação simples em camada de sulfato de sódio de anidro, para retirar traços de água ainda presente no óleo essencial.

A composição da OEAZ foi determinada por cromatografia gasosa e espectrometria de massas. Continha: 1,8-cineol, 20,57%; terpinen-4-ol, com 19,39%; g-terpinene, 15,08%; sabineno, 9,68%, p-cimeno, 8,54%; um tujene, 6,35%; um terpinene, 3,88%; b-pineno, 3,02%; limoneno, 2,64%; um pineno, 2,38%; terpinoleno, 1,93%; bmircene, 1,20%; cariophylene-trans, 1,11%; um terpineol, 0,86%; não identificados, 3,35%.

Para a administração aos animais o OEAZ será diluído em tween 80 a 2%.

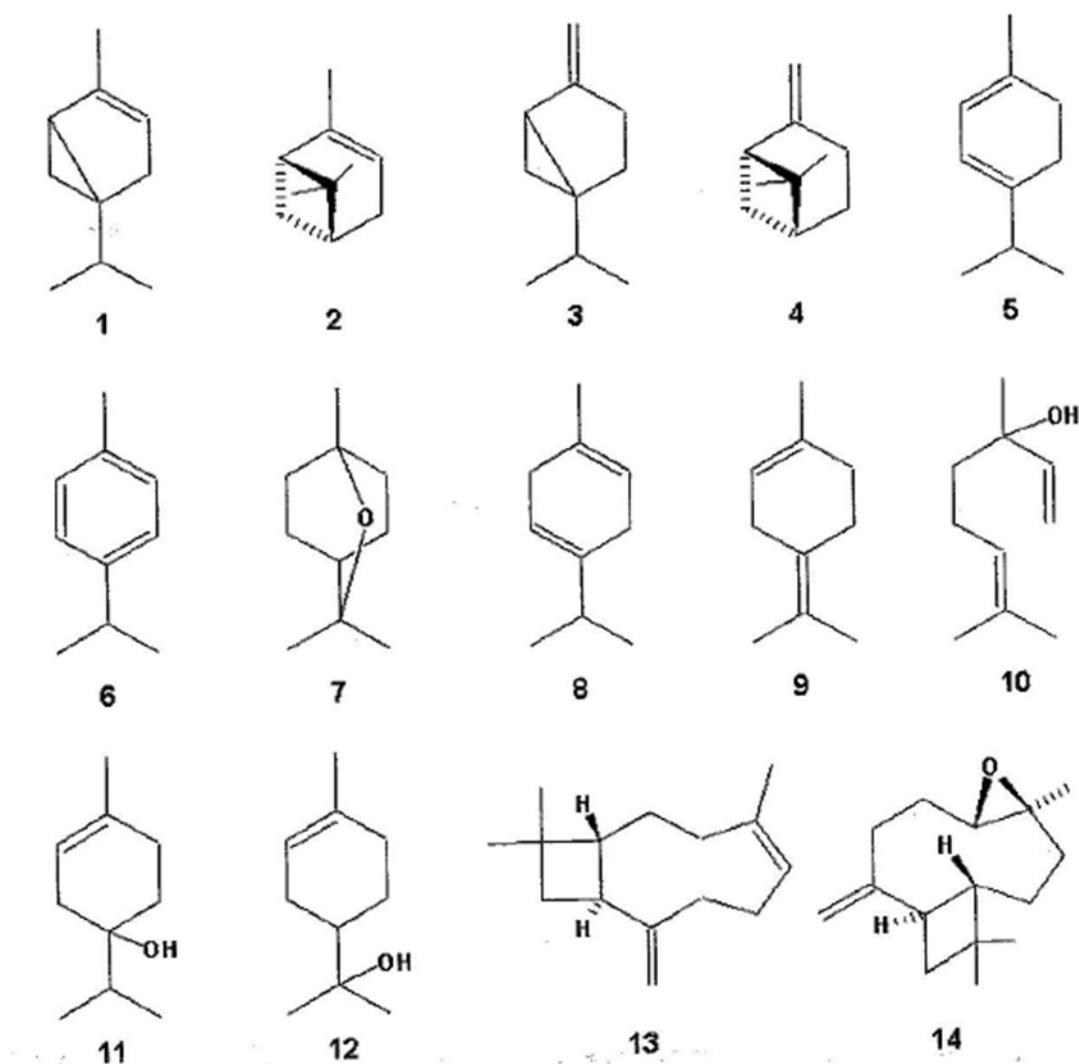


FIGURA 6. Principais constituintes do óleo essencial das folhas de *Alpinia zerumbet* utilizado no estudo.  $\alpha$ -tungeno (1),  $\alpha$ -pineno (2), sabineno (3),  $\beta$ -pineno (4),  $\alpha$ -terpineno (5), p-cimeno (6), 1,8-cineol (7),  $\gamma$ -terpineno (8), terpinoleno (9), linalool (10), terpinen-4-ol (11),  $\alpha$ -terpineol (12), z-cariofileno (13), óxido de cariofileno (14).

### 3.3 Outras Drogas Utilizadas

#### - Pentilenotetrazol (PTZ)

Pentilenotetrazol (Sigma Chemical Co.,USA) dissolvida em solução salina a 0.9% , obtendo-se uma concentração final de 85 mg/kg.

#### - Estricnina (ESTRIC)

Estricnina (Sigma Chemical Co.,USA) dissolvida em água destilada , obtendo-se uma concentração final de 2 mg/kg.

#### - Pilocarpina (PILO)

Pilocarpina / Cloridrato de pilocarpina (Sigma Chemical Co,USA) dissolvida em solução salina a 0.9%, obtendo-se uma concentração final de 400 mg/kg.

#### - Valproato

Divalproato de sódio (Depakote ER 500mg®, Abbott Pharmaceuticals PR Ltd., Porto Rico) dissolvido em solução salina a 0,9%, obtendo-se uma concentração final de 200 mg/kg.

#### - Diazepam

Ampolas de Diazepam (União Química, Brasil). A droga foi diluída em água destilada e administrada na dose de 1mg/kg, via intraperitoneal (i.p).

### 3.4 Estudo dos efeitos comportamentais do OEAZ em tratamento agudo

Para a realização dos experimentos, os animais foram divididos em grupos (n=7) e tratados com água destilada, OEAZ em doses de 100 mg/kg, veículo (tween 80 a 2%, 10 ml), 200 mg/kg, veículo (tween 80 a 2%, 10 ml), as drogas específicas para controle positivo Valproato 200 mg/kg e Diazepam 1 mg/kg por via intraperitoneal. Após 30

minutos da administração das drogas acima citadas, as drogas convulsivantes para o modelo comportamental são então administradas por via intraperitoneal e os animais são submetidos aos testes comportamentais avaliando a latência de convulsão (tempo entre a administração da droga padrão convulsivante até a primeira convulsão clônica ou tônico-clônica) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração da droga padrão convulsivante e morte dos animais).

**TABELA 3.** Grupos experimentais em tratamento agudo

<b>Grupos Experimentais</b>	<b>Drogas Utilizadas</b>	<b>Dose (mg/kg)</b>	<b>Via de Administração</b>
AZUL (n=7)	OEAZ	100	IP
VERMELHO (n=7)	OEAZ	200	IP
PRETO (n=7)	Valproato	200	IP
ROXO (n=7)	Diazepam	1	IP
VERDE (n=7)	Água destilada	----	IP

**TABELA 4.** Tratamento agudo, desafio com drogas convulsivante e ECS

Grupos Tratados	Tempo para administração das drogas convulsivantes e ECS	Drogas e modelo convulsivantes utilizados	Dose das drogas convulsivantes (mg/kg)
		Pentilenotetrazol (PTZ)	85
OEAZ 100		Estricnina (ESTRIC)	2
OEAZ 200	30 min.	Pilocarpina (PILO)	400
VALPROATO 200		Picrotoxina (PICRO)	10
DIAZEPAM 1*		Eletrochoque (ECS)	----
Água destilada			

\*Diazepam não foi utilizado como controle em modelo de convulsão induzida por ECS

**TABELA 5.** Parâmetros Comportamentais

PARÂMETROS	CARACTERÍSTICAS
Latência de Convulsão	Intervalo de tempo em segundos entre a injeção da droga convulsivante ou modelo de ECS e o aparecimento da primeira convulsão.
Latência de Morte	Intervalo de tempo em segundos entre a injeção da droga convulsivante ou modelo de ECS e a morte do animal.

Fonte: adaptado de Turski et al., 1983

### 3.4.1 Teste das convulsões induzidas por Pentilenotetrazol (PTZ) em tratamento agudo

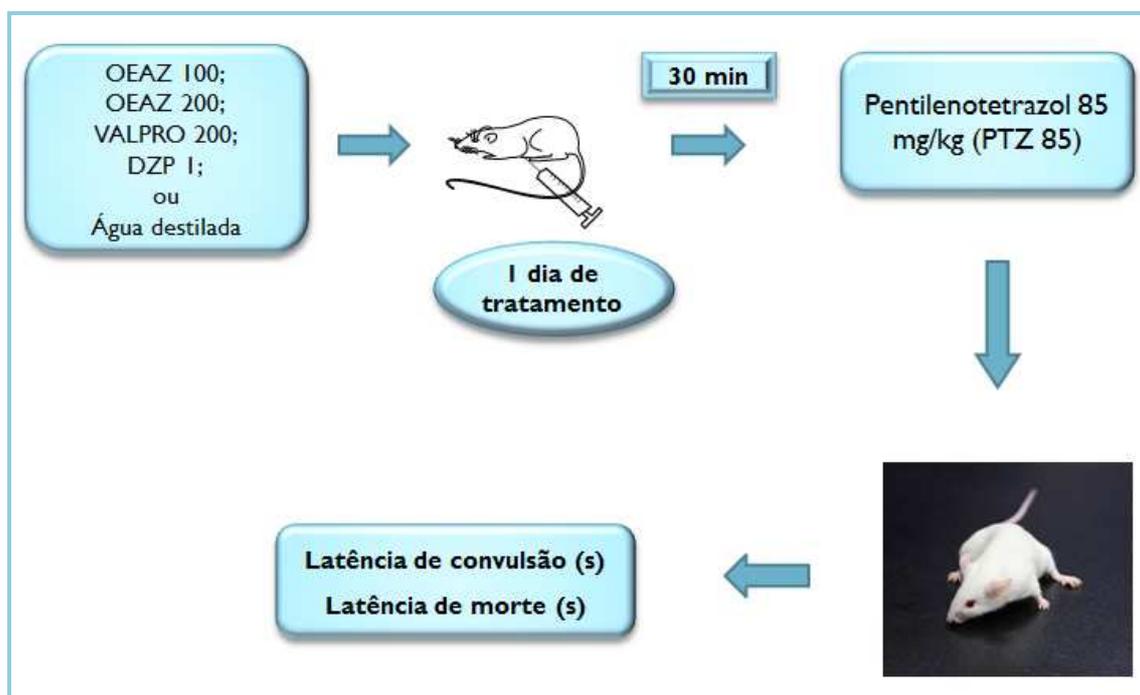


FIGURA 7. Teste das convulsões induzidas por PTZ 85 em tratamento agudo

### 3.4.2 Teste das convulsões induzidas por Estricnina (ESTRIC) em tratamento agudo

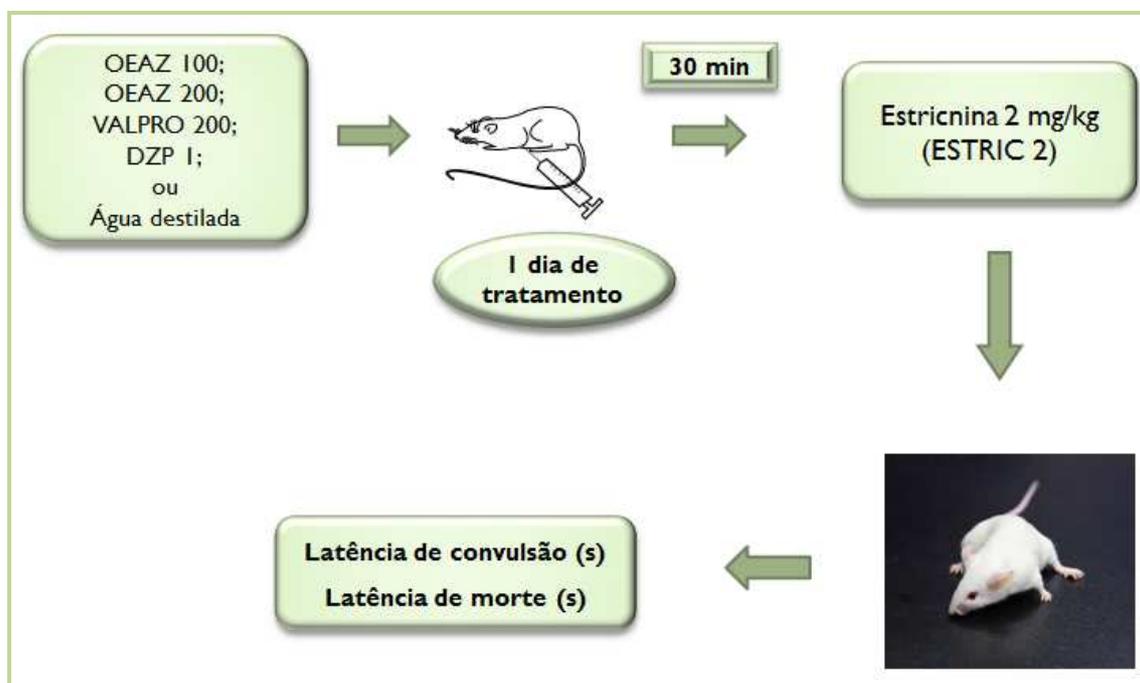


FIGURA 8. Teste das convulsões induzidas por ESTRIC 2 em tratamento agudo

### 3.4.3 Teste das convulsões induzidas por Pilocarpina (PILO) em tratamento agudo

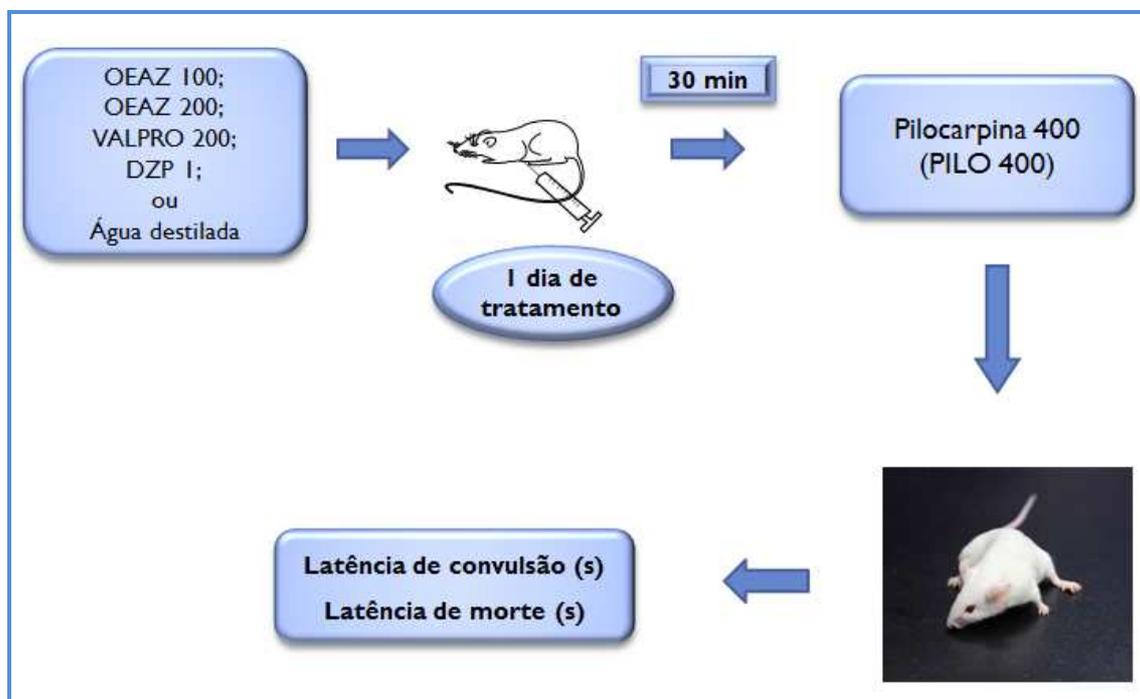


FIGURA 9. Teste das convulsões induzidas por PILO 400 em tratamento agudo

### 3.4.4 Teste das convulsões induzidas por Eletrochoque (ECS) em tratamento agudo

A metodologia proposta por Swinyard et al.,(1952) foi modificada onde, os animais foram tratados com OEAZ 100 e 200 mg/kg, veículo (tween 80 a 2%, 10 ml) e após 30 minutos, foram submetidos ao modelo do choque eletroconvulsivo (ECS), para controle positivo, como drogas anticonvulsivantes foram utilizados valproato na dose de 200 mg/kg (VALPRO) e Diazepam 1mg/kg (DZP). O aparelho de ECS (Eletrochoque) é projetado especialmente para pesquisas neurofarmacológicas. A saída de corrente usada aponta resultados reproduzíveis, mostrando variações no limiar provocada por drogas que tem ações específicas no córtex e regiões sub-corticais. Os parâmetros de choque foram escolhidos após consulta a literatura recente, para suprir a escala adequada quando operado em animais. Deste modo os eletrodos foram posicionados na orelha dos animais e o aparelho modulado nos seguintes parâmetros: Frequência: 75Hz; Largura de Pulso: 0,5 ms, Duração: 0,5s; Corrente: 13mA. Foram avaliados o tempo de latência de convulsão (LC) período em que o animal leva para manifestar a primeira

convulsão e o tempo total de estiramento do animal (tempo de convulsão), representando a Convulsão Clônica Generalizada (CCG) propriamente dita. (HARTMAN (2008); PLOSKI (2006); TAKAHASHI (2005)).

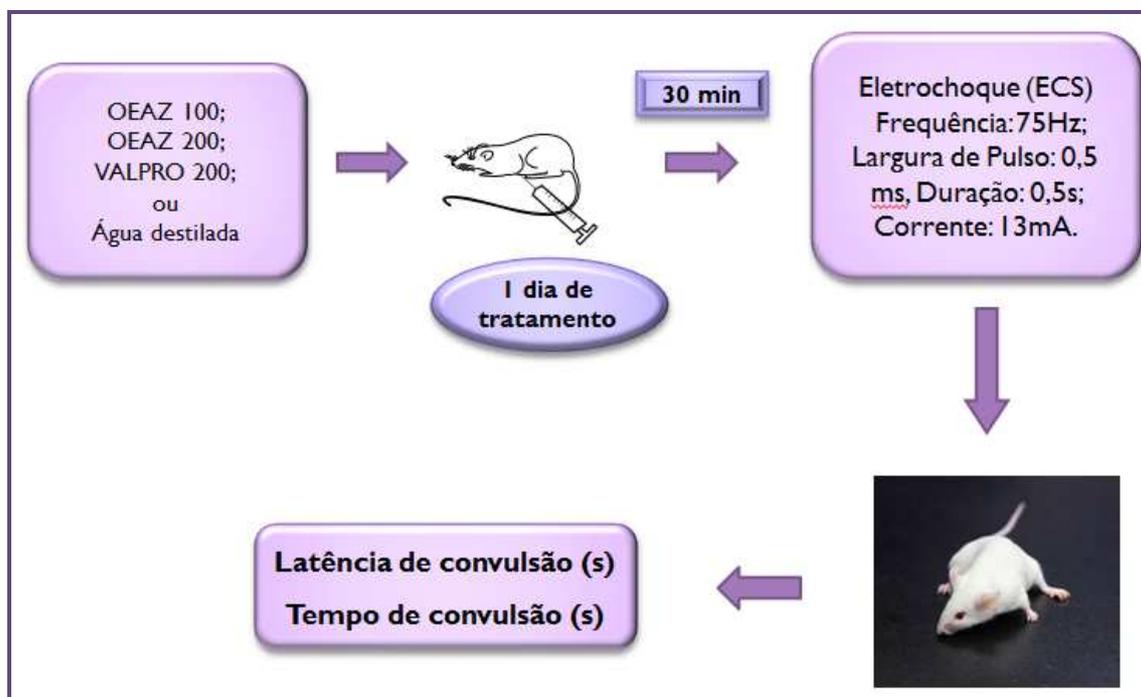


FIGURA 10. Teste das convulsões induzidas por ECS em tratamento agudo

### 3.5 Estudo dos efeitos comportamentais do OEAZ em administração repetida

Os animais foram divididos em cinco grupos (n=7) e submetidos a um tratamento subcrônico por 5 dias consecutivos, onde o grupo AZUL recebeu a dose de OEAZ na concentração de 100 mg/kg, veículo (tween 80 a 2%, 10 ml) (OEAZ 100) por via intraperitoneal (IP). O grupo VERMELHO recebeu a dose de OEAZ na concentração de 200 mg/kg, veículo (tween 80 a 2%, 10 ml) (OEAZ 200), como controles positivos foram utilizados os grupos PRETO, recebendo a dose de Valproato na concentração de 200 mg/Kg (VALPRO 200), e ROXO, recebendo a dose de Diazepam na concentração de 1mg/kg (DZP 1) todos por via intraperitoneal (IP). O grupo VERDE recebeu água destilada, atuando como controle negativo, também por via IP. Ao final desses 5 dias de tratamento, os cinco grupos de animais foram desafiados com injeção intraperitoneal (IP) das drogas convulsivantes para o modelo comportamental, após 30 minutos da administração das drogas de tratamento. Seguindo-se, então, os testes comportamentais avaliando a latência de convulsão (tempo

entre a administração da droga padrão para o modelo comportamental até a primeira convulsão clônica ou tônico-clônica) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração da droga padrão para o modelo comportamental e morte dos animais).

**TABELA 6.** Tratamento subcrônico e desafio com drogas convulsivante e ECS

Grupos Tratados	Tempo para administração das drogas convulsivantes e ECS	Drogas e modelo convulsivantes utilizados	Dose das drogas convulsivantes (mg/kg)
OEAZ 100	5 dias de tratamento (30 min. no 5º dia)	Pentilenotetrazol (PTZ)	85
OEAZ 200			
VALPROATO 200		Estricnina (ESTRIC)	2
Diazepam 1*		Pilocarpina (PILO)	400
Água destilada		Eletrochoque (ECT)	----

\*Diazepam não foi utilizado como controle em modelo de convulsão induzida por ECS

### 3.5.1 Teste das convulsões induzidas por Pentilenotetrazol (PTZ) em administração repetida

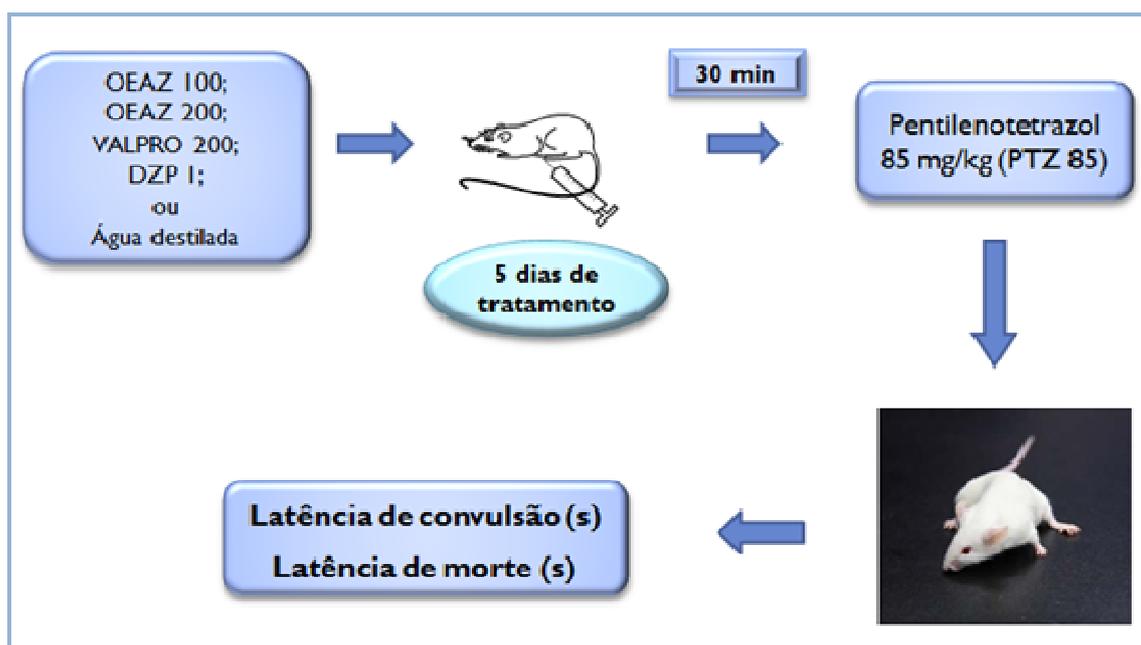


FIGURA 11. Teste das convulsões induzidas por PTZ 85 em administração repetida

### 3.5.2 Teste das convulsões induzidas com Estricnina (ESTRIC) em administração repetida

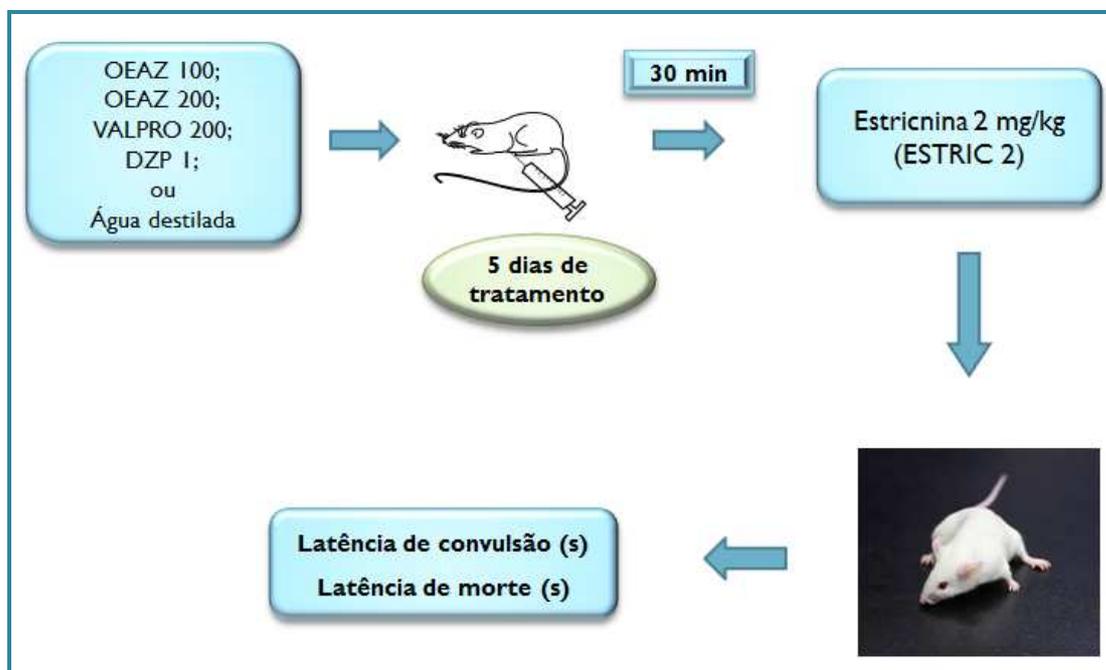


FIGURA 12. Teste das convulsões induzidas por ESTRIC 2 em administração repetida

### 3.5.3 Teste das convulsões induzidas por Pilocarpina (PILO) em administração repetida

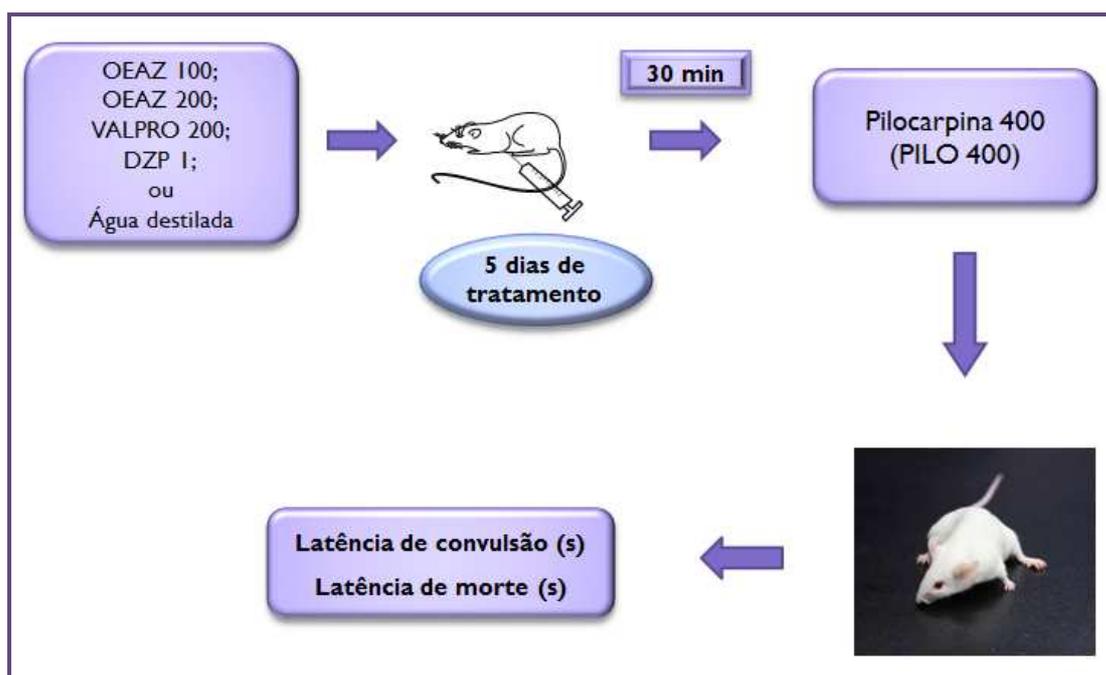


FIGURA 13. Teste das convulsões induzidas por PILO 400 em administração repetida

### 3.5.4 Teste das convulsões induzidas por Eletrochoque (ECS) em administração repetida

A metodologia proposta por Swinyard et al.,(1952) foi modificada onde, os animais foram tratados com OEAZ 100 e 200 mg/kg, veículo (tween 80 a 2%, 10 ml) por 5 dias e, no quinto dia de tratamento, após 30 minutos, foram submetidos ao modelo do choque eletroconvulsivo (ECS), para controle positivo, como drogas anticonvulsivantes foram utilizados valproato na dose de 200 mg/kg (VALPRO) e diazepam na dose de 1 mg/kg (DZP). O aparelho de ECS (Eletrochoque) é projetado especialmente para pesquisas neurofarmacológicas. A saída de corrente usada aponta resultados reproduzíveis, mostrando variações no limiar provocada por drogas que tem ações específicas no córtex e regiões sub-corticais. Os parâmetros de choque foram escolhidos após consulta a literatura recente, para suprir a escala adequada quando operado em animais. Deste modo os eletrodos foram posicionados na orelha dos animais e o aparelho modulado nos seguintes parâmetros: Frequência: 75Hz; Largura de Pulso: 0,5 ms, Duração: 0,5s; Corrente: 13mA. Foram avaliados o tempo de latência de convulsão (LC) período em que o animal leva para manifestar a primeira convulsão e o tempo total de estiramento do animal (tempo de convulsão), representando a Convulsão Clônica Generalizada (CCG) propriamente dita. (HARTMAN (2008); PLOSKI (2006);TAKAHASHI (2005)).

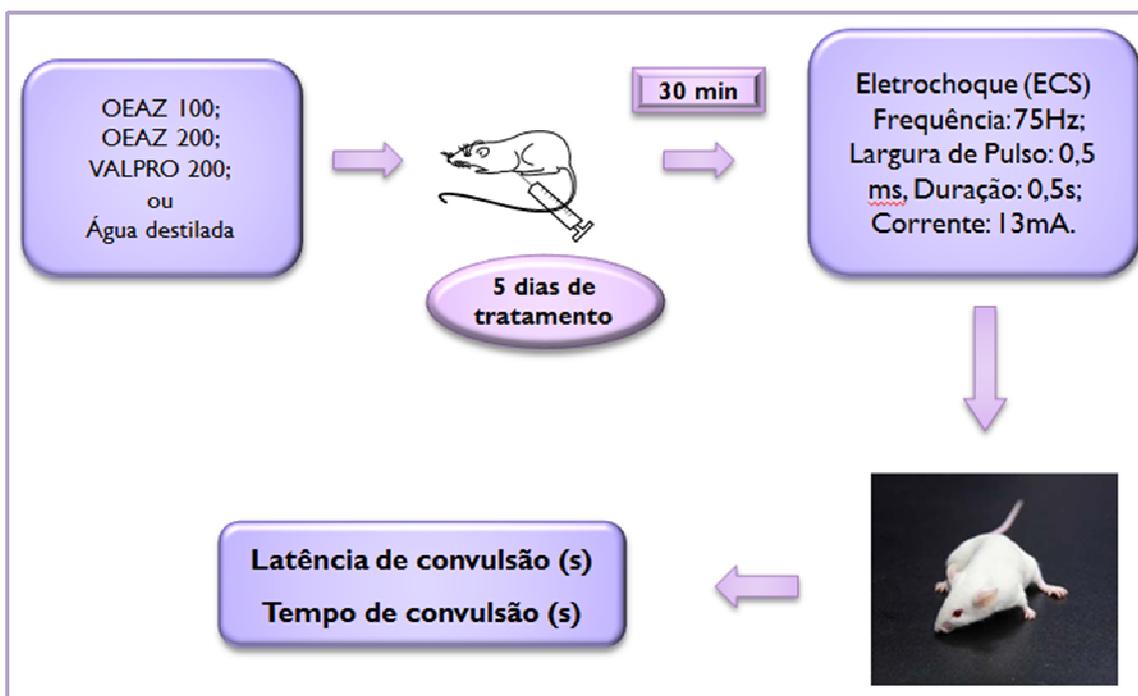


FIGURA 14. Teste das convulsões induzidas por ECS em administração repetida

#### 4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism versão 5.0 para Windows, GraphPad Software, San Diego, Califórnia EUA. Copyright (c) 1992- 2007 por GraphPad Software.

Em todas as análises estatísticas, os valores foram representados pela Média  $\pm$  Erro Padrão da Média (EPM) e foi considerado o nível crítico para a rejeição da hipótese de nulidade menor que 0,05 ( $p < 0,05$ ).

Os resultados que obedeciam a uma distribuição paramétrica foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo teste de Student Newman Keuls (post hoc) ou pelo Student  $t$  test. Valores significativos comparados ao controle <sup>a</sup> $p < 0,05$  e <sup>b</sup> $p < 0,05$  comparado ao EOAZ 100 mg/kg .

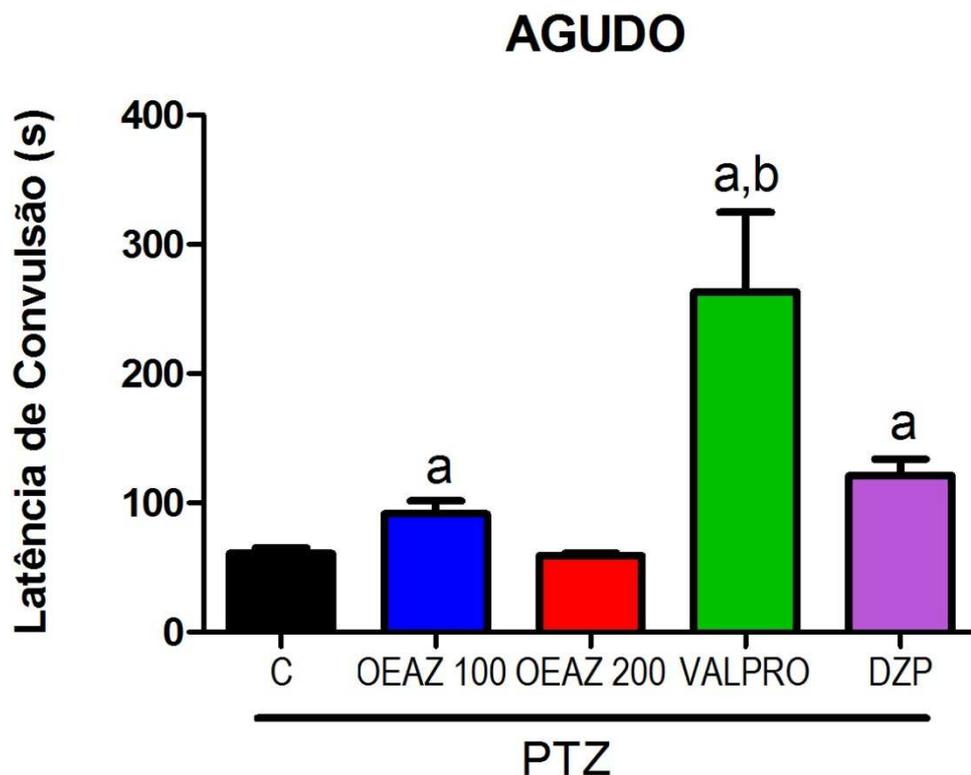
## 5. RESULTADOS

### 5.1 Teste das convulsões induzidas por Pentilenotetrazol 85 mg/kg (PTZ 85) em tratamento agudo

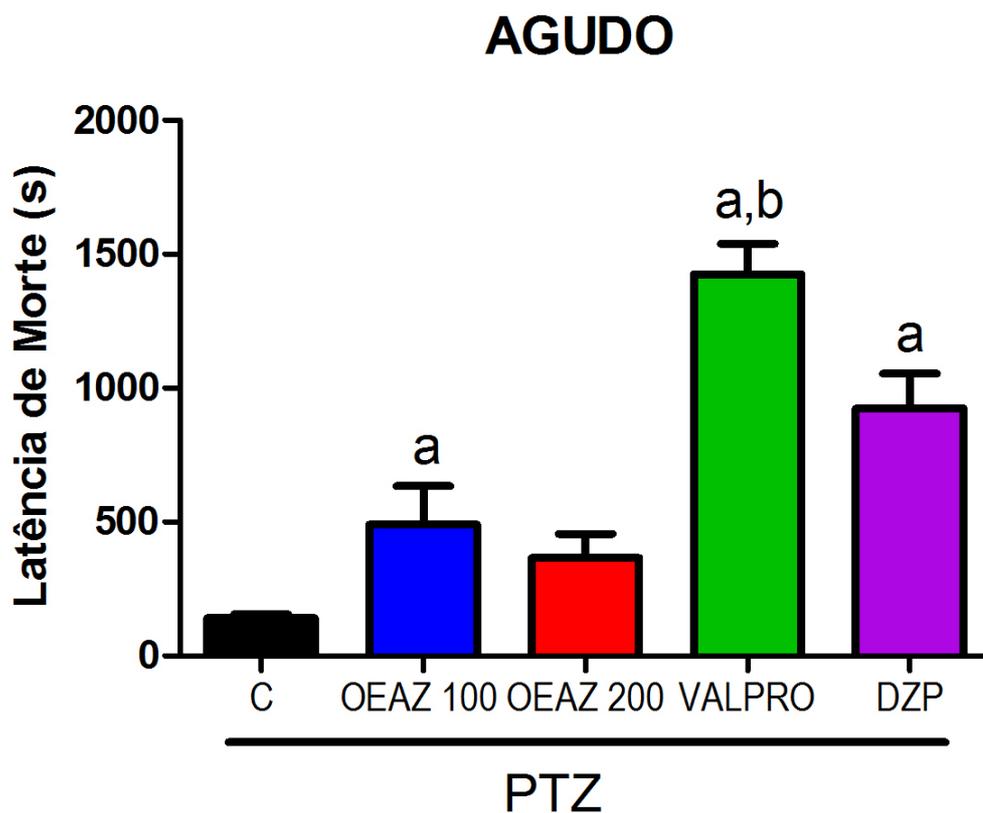
No modelo de convulsão induzida por Pentilenotetrazol na dose de 85 mg/kg (PTZ 85), foram avaliados dois parâmetros: tempo de latência de convulsão (tempo em que o animal leva para apresentar a primeira convulsão) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração da droga padrão para o modelo comportamental e morte dos animais).

Observa-se na **Figura 15** que o OEAZ na dose de 100mg/kg apresentou um efeito neuroprotetor prolongando o tempo de latência de convulsão, quando comparado ao grupo controle (C),  $p < 0,05$  e grupo Valproato,  $p < 0,0001$  (Controle PTZ 85 =  $60,67 \pm 4,35$ ; OEAZ 100 =  $91,43 \pm 9,97$ ; OEAZ 200 =  $59,14 \pm 2,09$ ; VALPRO 200 =  $263,0 \pm 61,88$ ; DZP 1 =  $121,1 \pm 12,67$ ).

Na **Figura 16** é observado, novamente, que o OEAZ na dose de 100 mg/kg obteve efeito anticonvulsivante significativo com relação ao grupo controle (C) sobre a latência de morte,  $p < 0,05$  e grupo valproato,  $p < 0,0001$ . (Controle PTZ 85 =  $141,6 \pm 14,12$ ; OEAZ 100 =  $491,0 \pm 143,2$ ; OEAZ 200 =  $366,0 \pm 90,06$ ; VALPRO 200 =  $1426 \pm 113,5$ ; DZP 1 =  $923,6 \pm 131,1$ ).



**FIGURA 15.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p.) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Pentilenotetrazol (PTZ 85 mg/kg, i.p.). As colunas representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos  $^{a,b}p < 0.05$  comparados ao controle e OEAZ 100 mg/kg, respectivamente.



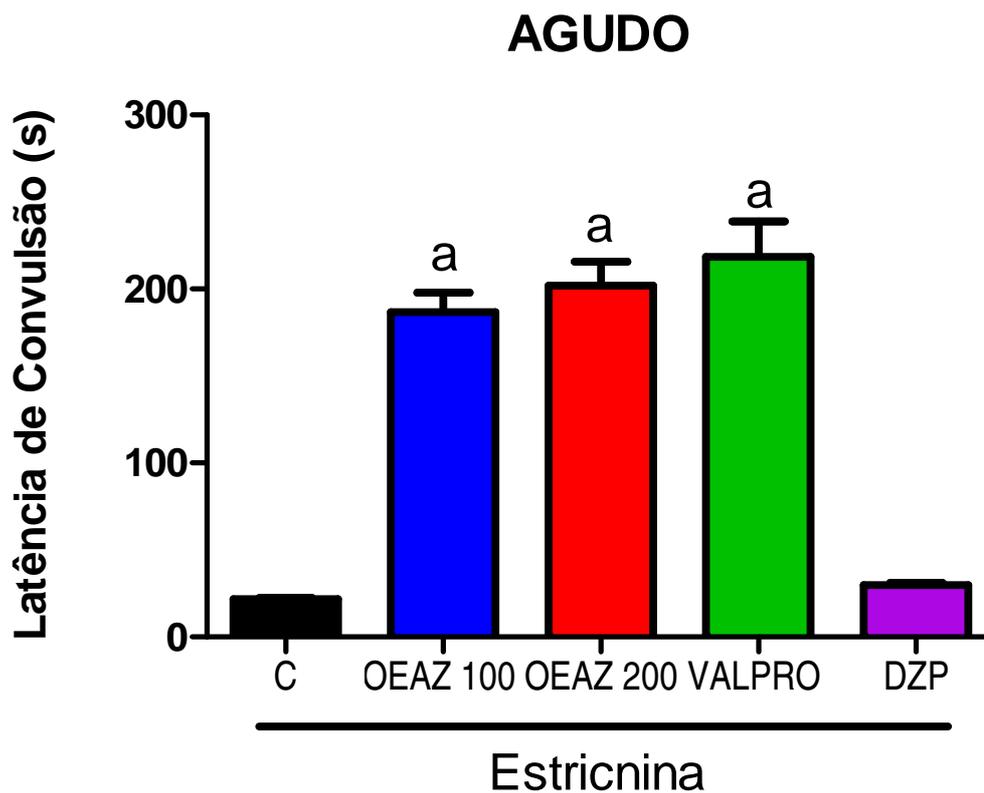
**FIGURA 16.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p.) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Pentilenotetrazol (PTZ 85 mg/kg, i.p.). As colunas representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos  $^{a,b}p < 0.05$  comparados ao controle e OEAZ 100 mg/kg, respectivamente.

## 5.2 Teste das convulsões induzidas por Estricnina 2 mg/kg (ESTRIC 2) em tratamento agudo

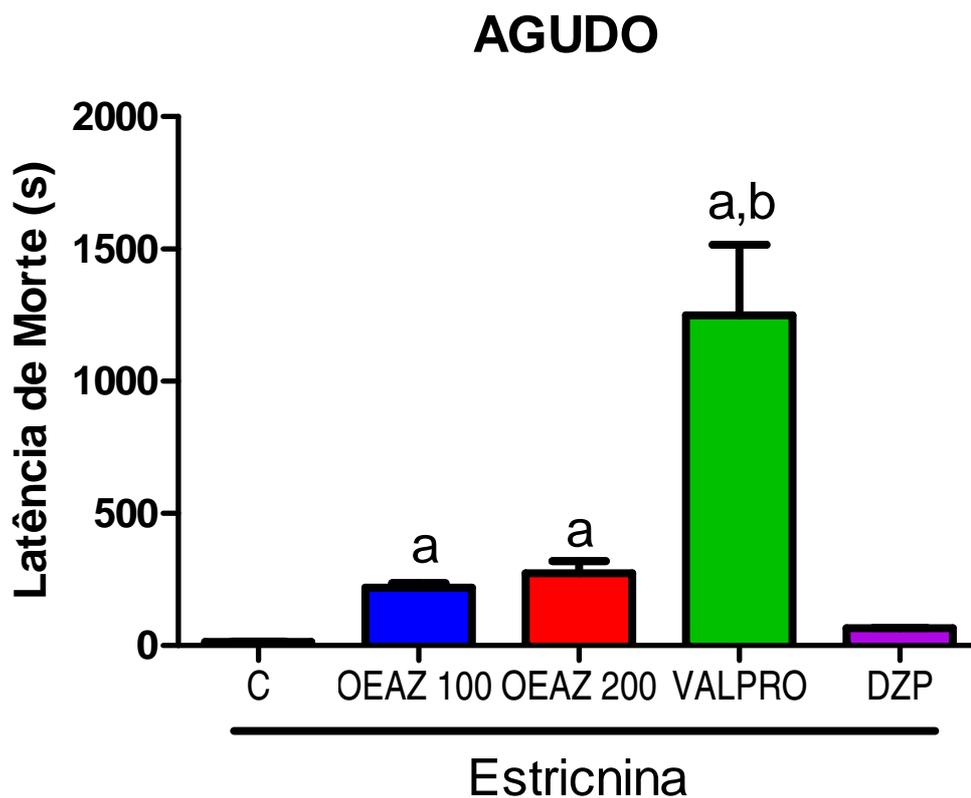
No modelo de convulsão induzida por Estricnina na dose de 2 mg/kg (ESTRIC 2), foram, também, avaliados dois parâmetros: tempo de latência de convulsão (tempo em que o animal leva para apresentar a primeira convulsão) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração da droga padrão para o modelo comportamental e morte dos animais).

A **Figura 17** mostra um efeito anticonvulsivante significativo do OEAZ 100 e OEAZ 200, em comparação ao grupo controle na latência de convulsão, bem como a droga anticonvulsivante padrão Valproato na dose de 200 mg/kg (VALPRO 200). No entanto, o Diazepam (DZP 1), mesmo sendo uma droga com conhecidos efeitos anticonvulsivantes, não demonstrou significância sobre a latência de convulsão quando comparado ao controle. (Controle ESTRIC 2 =  $21,83 \pm 0,872$ ; OEAZ 100 =  $186,7 \pm 11,15$ ; OEAZ 200 =  $201,9 \pm 13,72$ ; VALPRO 200 =  $218,3 \pm 20,59$ ; DZP 1 =  $29,86 \pm 1,29$ ).

A **Figura 18** mostra efeitos significativos, dose resposta, sobre a latência de morte em comparação com o grupo controle de OEAZ 100 e OEAZ 200. O Valproato na dose de 200 mg/kg elevou significativamente a latência de morte com relação ao grupo controle, como esperado por ser uma droga reconhecidamente anticonvulsivante. Todavia, o mesmo não ocorreu com o Diazepam (1 mg/kg), que não foi capaz de prolongar a latência de morte no modelo de convulsão em relação ao controle, mesmo sendo uma droga de efeitos anticonvulsivantes reconhecidos. (Controle ESTRIC 2 =  $13,71 \pm 2,57$ ; OEAZ 100 =  $219,3 \pm 16,90$ ; OEAZ 200 =  $273,6 \pm 46,26$ ; VALPRO 200 =  $1249 \pm 266,0$ ; DZP 1 =  $65,00 \pm 3,04$ ).



**FIGURA 17.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p.) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Estrichina (ESTRIC 2 mg/kg, i.p.). As colunas representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle <sup>a</sup> $p < 0.0001$ .



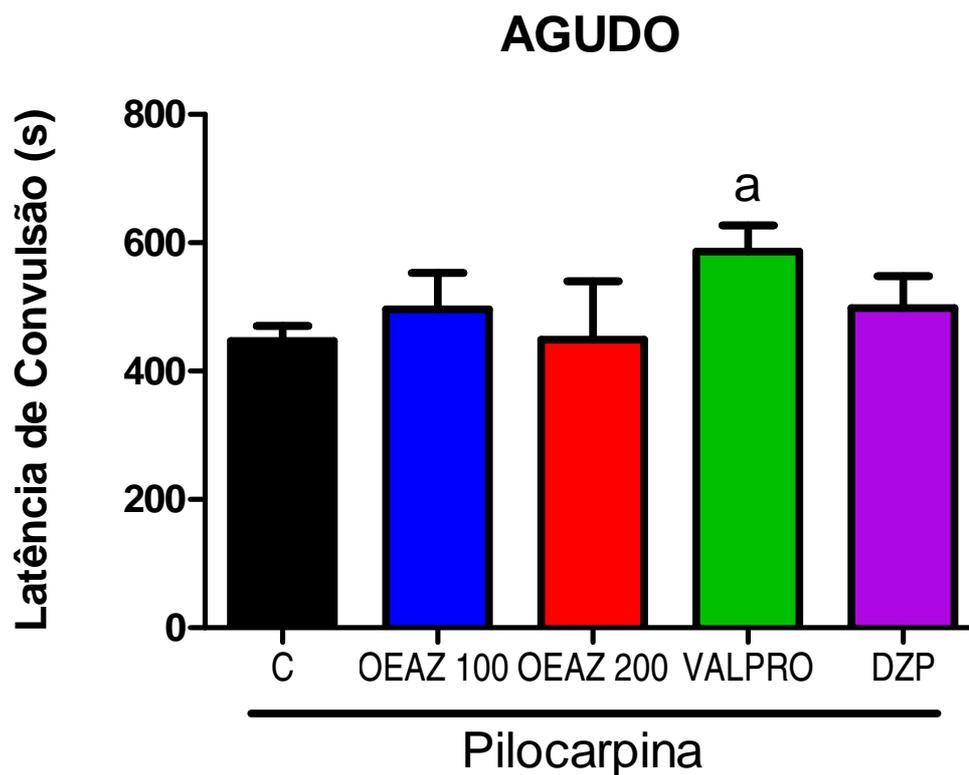
**FIGURA 18.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p.) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Estricnina (ESTRIC 2mg/kg, i.p.). As colunas representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos  $^{a,b}p < 0.05$  comparados ao controle e OEAZ 100 mg/kg, respectivamente.

### 5.3 Teste das convulsões induzidas por Pilocarpina 400 mg/kg (PILO 400) em tratamento agudo

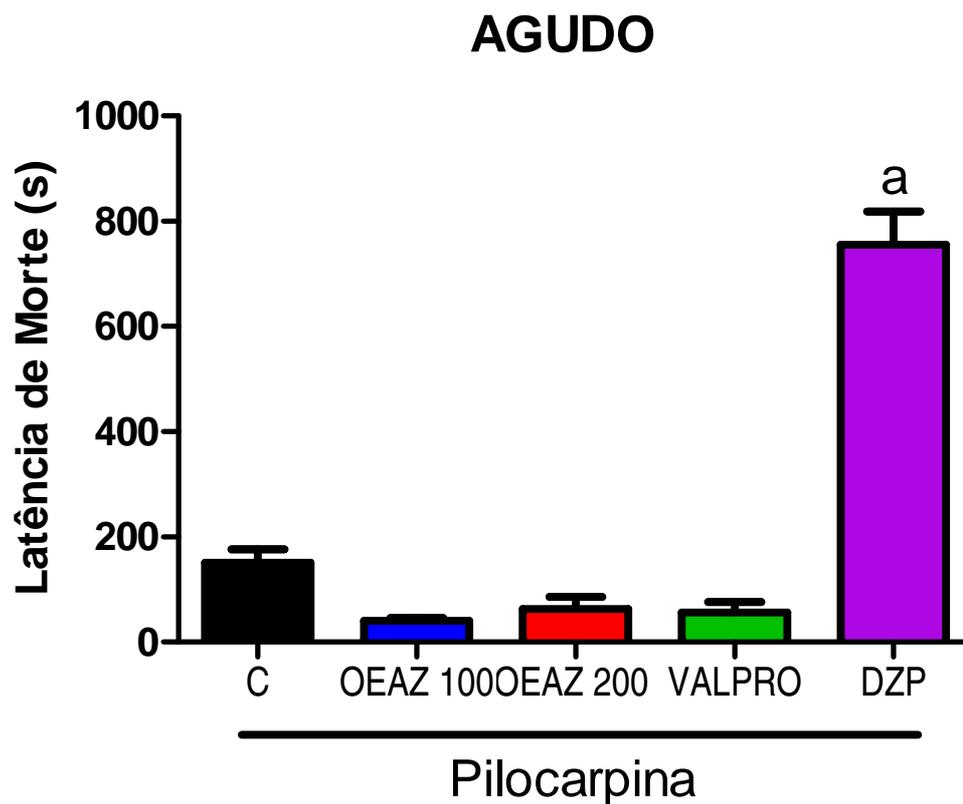
No modelo de convulsão induzida por Pilocarpina na dose de 400 mg/kg (PILO 400), foram avaliados dois parâmetros: tempo de latência de convulsão (tempo em que o animal leva para apresentar a primeira convulsão) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração da droga padrão para o modelo comportamental e morte dos animais).

A **Figura 19** mostra que as duas doses de OEAZ (100 e 200) e o Diazepam (DZP 1) não obtiveram resultado significativo sobre a latência de convulsão comparado ao grupo controle. Já o Valproato foi significativo com relação ao grupo controle. (Controle PILO 400 =  $447,0 \pm 23,26$ ; OEAZ 100 =  $496,0 \pm 57,14$ ; OEAZ 200 =  $448,7 \pm 91,53$ ; VALPRO 200 =  $586,3 \pm 40,66$ ; DZP 1 =  $498,6 \pm 49,75$ ).

Em relação à latência de morte, a **Figura 20** mostra que o OEAZ 100 e o OEAZ 200 não obtiveram resposta significativa com relação ao controle, diferentemente do Diazepam (DZP 1) que aumentou significativamente a latência de morte quando comparado ao grupo controle. (Controle PILO 400 =  $151,1 \pm 25,36$ ; OEAZ 100 =  $40,80 \pm 5,526$ ; OEAZ 200 =  $63,00 \pm 23,20$ ; VALPRO 200 =  $56,33 \pm 19,69$ ; DZP 1 =  $755,1 \pm 63,39$ ).



**FIGURA 19.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p.) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Pilocarpina (PILO 400 mg/kg, i.p.). As colunas representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) analisados através Student *t* test. Valores significativos comparados ao controle <sup>a</sup> $p < 0.05$ .



**FIGURA 20.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p.) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Pilocarpina (PILO 400 mg/kg, i.p.). As colunas representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle <sup>a</sup> $p < 0.0001$ .

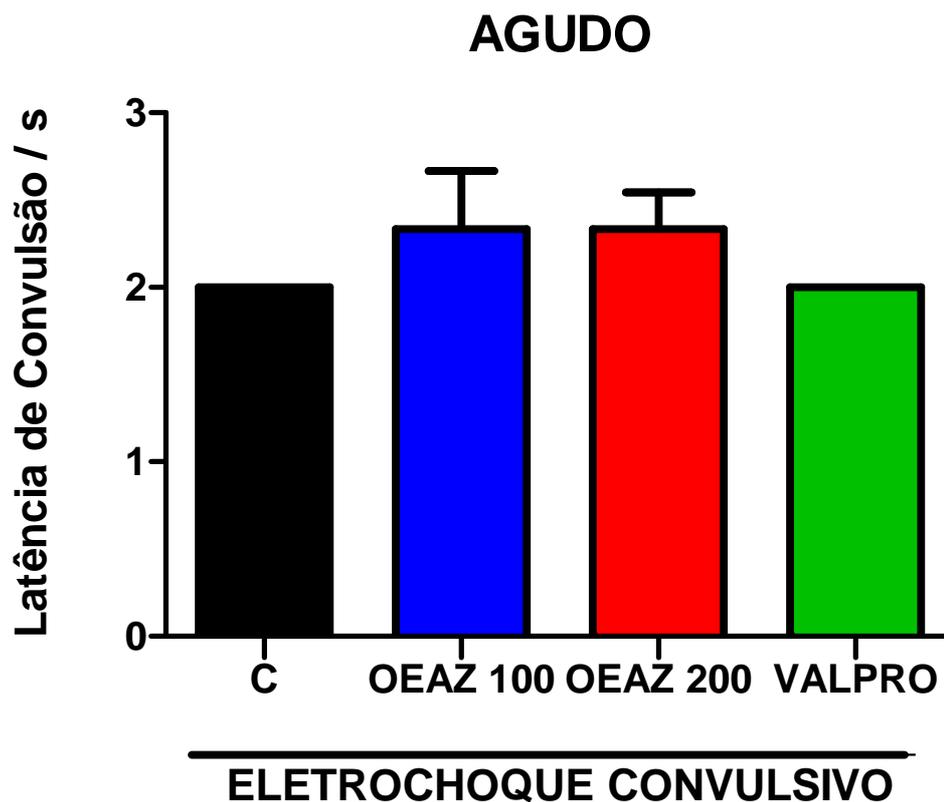
#### 5.4 Teste das convulsões induzidas por Eletrochoque (ECS) em tratamento agudo

No modelo de convulsão induzida por eletrochoque, foram avaliados dois parâmetros: tempo de latência de convulsão (tempo em que o animal leva para apresentar a primeira convulsão) e tempo de estiramento (tempo de convulsão).

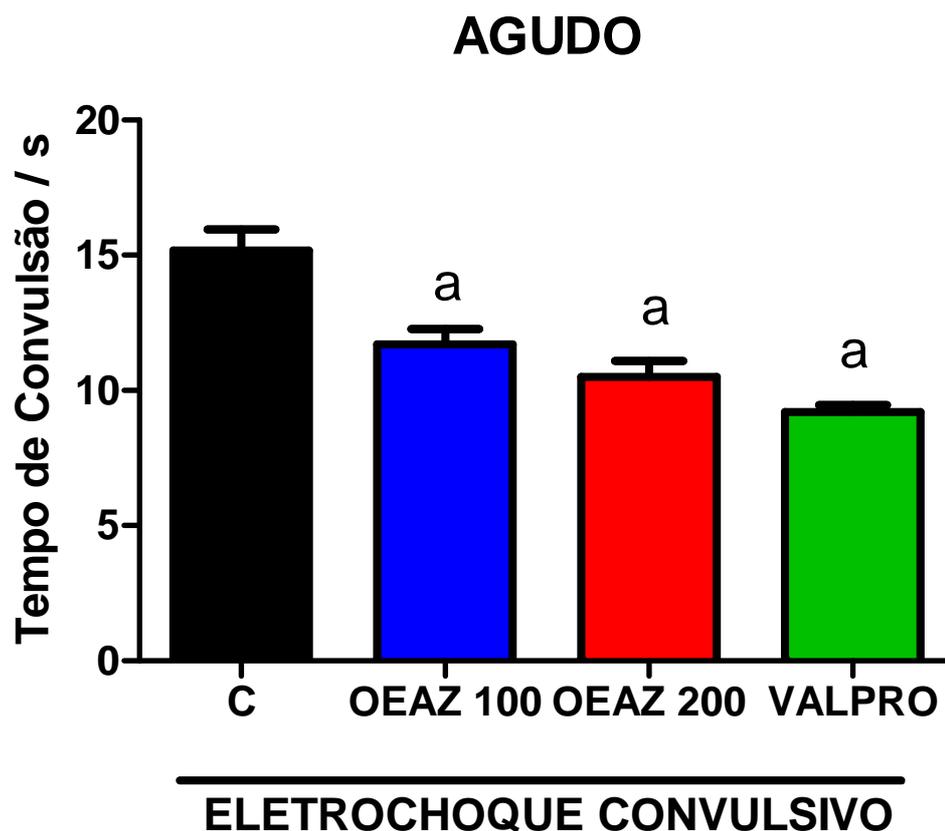
O OEAZ (100 e 200) não apresentou efeito sobre a latência da primeira convulsão, como pode ser observado na **Figura 21**. (Controle ECS =  $2,00 \pm 0,0$ ; OEAZ 100 =  $2,33 \pm 0,33$ ; OEAZ 200 =  $2,33 \pm 0,21$ ; VALPRO =  $2,00 \pm 0,0$ ).

No tempo de estiramento o OEAZ nas doses estudadas de 100mg/kg e 200 mg/kg apresentaram efeito anticonvulsivante significativo, quando comparado ao grupo controle como mostra a **Figura 22**. (Controle ECS =  $15,17 \pm 0,79$ ; OEAZ 100 =  $11,71 \pm 0,56$ ; OEAZ 200 =  $10,50 \pm 0,59$ ; VALPRO =  $9,21 \pm 0,24$ ).

Como droga padrão para o teste foi utilizado VALPRO (200mg/kg) apresentou diminuição no tempo de estiramento quando comparado ao grupo controle. No entanto, não foi capaz de aumentar a latência de convulsão.



**FIGURA 21.** Efeitos do OEAZ (100 e 200mg/kg. i.p), e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a Latência de Convulsão induzida por Eletrochoque máximo. As colunas representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*.



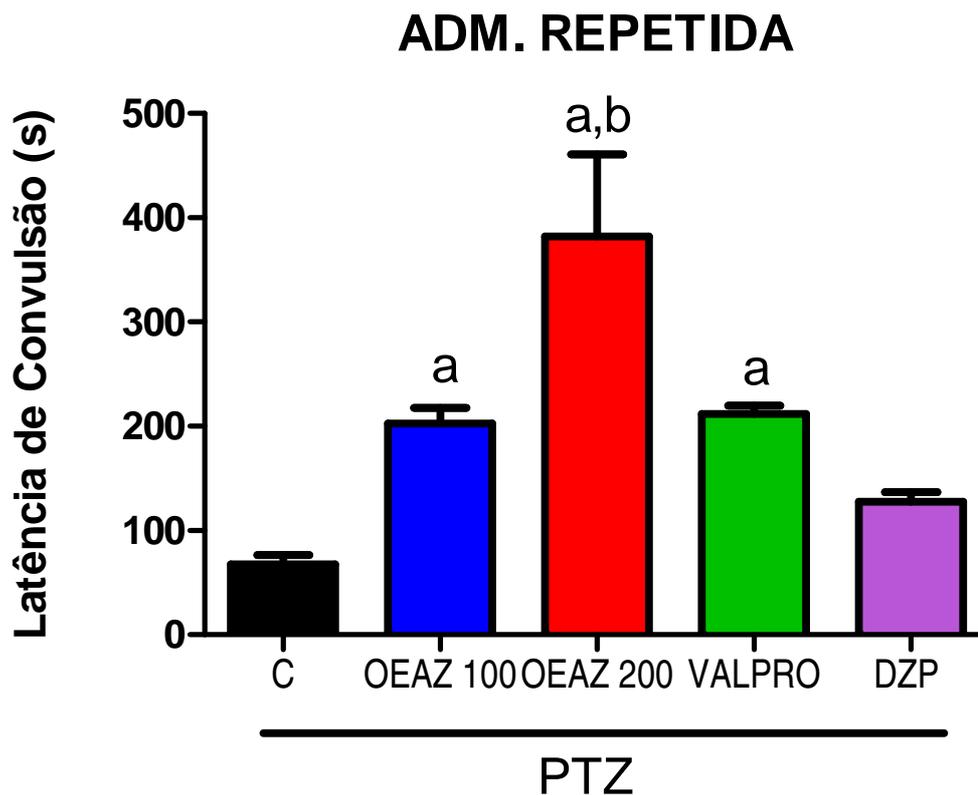
**FIGURA 22.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre tempo de estiramento (tempo de convulsão). Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste post hoc. Valores significativos comparados ao controle <sup>a</sup>p< 0,05.

### 5.5 Teste das convulsões induzidas por Pentilenotetrazol 85 mg/kg (PTZ 85) em administração repetida

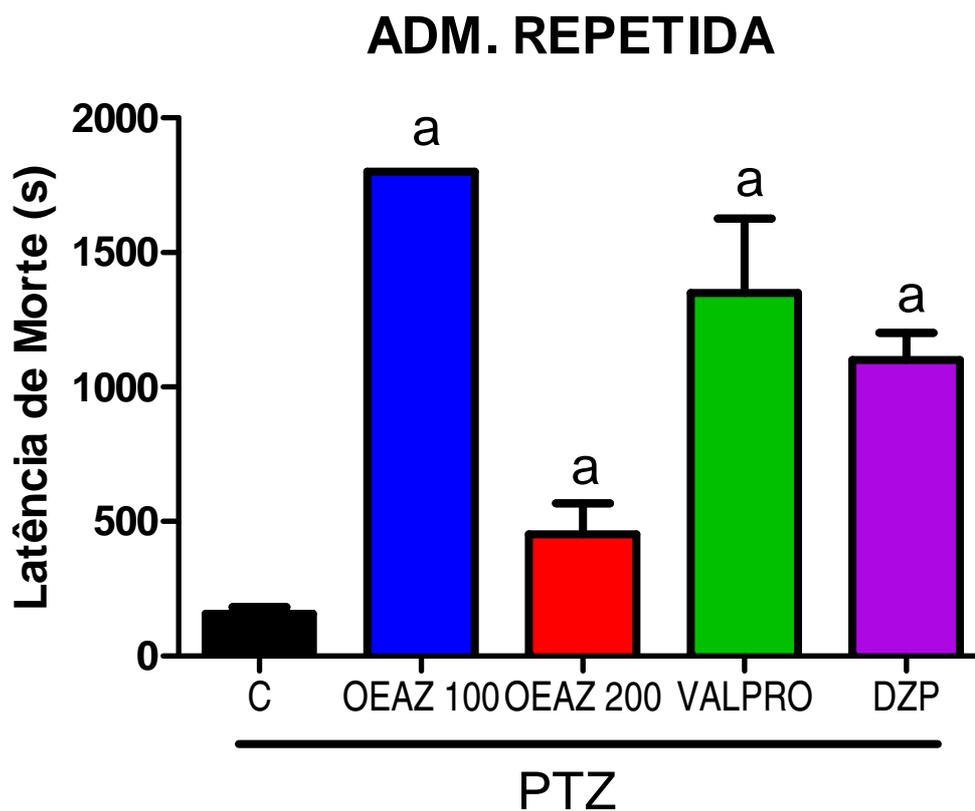
No modelo de convulsão induzida por Pentilenotetrazol na dose de 85 mg/kg (PTZ 85) em administração repetida (5 dias), foram avaliados dois parâmetros: tempo de latência de convulsão (tempo em que o animal leva para apresentar a primeira convulsão) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração da droga padrão para o modelo comportamental e morte dos animais).

A **Figura 23** mostra que OEAZ 100 e VALPRO 200, semelhantemente, aumentaram a latência de convulsão em tratamento repetido, em comparação ao controle. O OEAZ na dose de 200 mg/kg apresentou efeito anticonvulsivante significativo, prolongando a latência de convulsão, em relação ao controle e também em comparação ao OEAZ 100, portanto, um efeito dose-resposta. DZP 1, não apresentou efeito significativo sobre a latência de convulsão, com relação ao controle. (Controle PTZ 85 =  $67,71 \pm 8,93$ ; OEAZ 100 =  $202,9 \pm 14,88$  ; OEAZ 200 =  $382,0 \pm 78,59$ ; VALPRO 200 =  $211,8 \pm 8,209$ ; DZP 1 =  $127,7 \pm 9,29$ ).

Na **Figura 24**, o OEAZ 100 apresentou efeito anticonvulsivante significativo ao prolongar a latência de morte com relação ao controle, com resultados superiores às drogas anticonvulsivantes padrão, VALPRO 200 e DZP 1. Já OEAZ 200, mostrou efeito neuroprotetor com relação ao grupo controle. (Controle PTZ 85 =  $158,3 \pm 24,40$ ; OEAZ 100 =  $1800 \pm 0,0$ ; OEAZ 200 =  $452,2 \pm 114,7$ ; VALPRO 200 =  $1349 \pm 276,2$ ; DZP 1 =  $1100 \pm 100,0$ ).



**FIGURA 23.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Pentilenotetrazol (PTZ 85 mg/kg, i.p.) em administração repetida. As colunas representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos <sup>a,b</sup> $p < 0.05$  comparados ao controle e OEAZ 100 mg/kg, respectivamente.



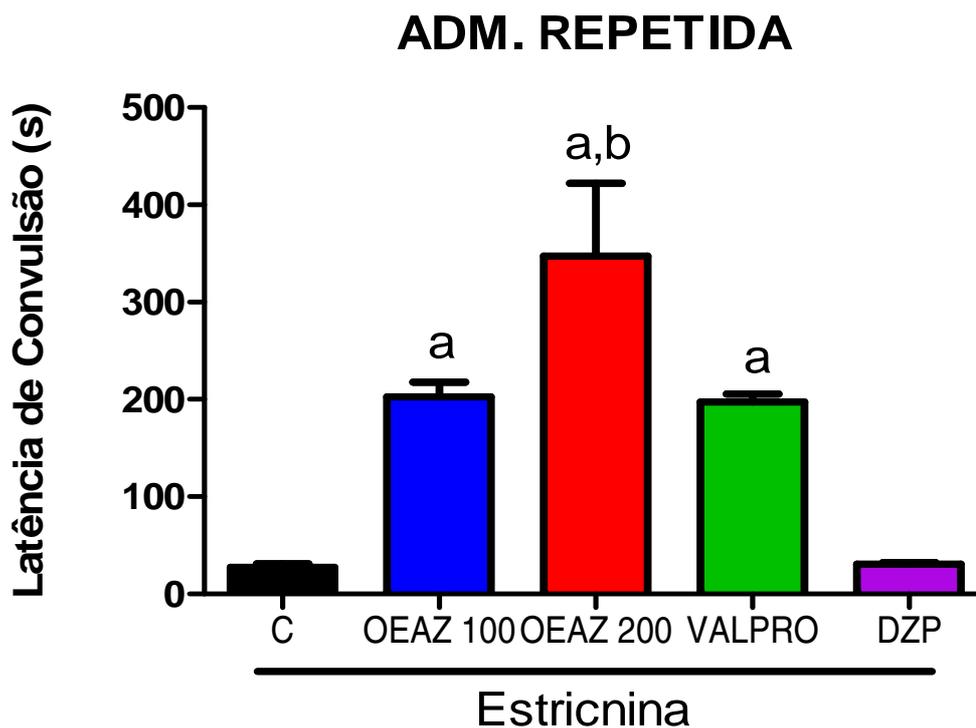
**FIGURA 24.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p.) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Pentilenotetrazol (PTZ 85 mg/kg, i.p.) em administração repetida. As colunas representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle <sup>a</sup> $p < 0,05$ .

### 5.6 Teste das convulsões induzidas por Estricnina 2 mg/kg (ESTRIC 2) em administração repetida

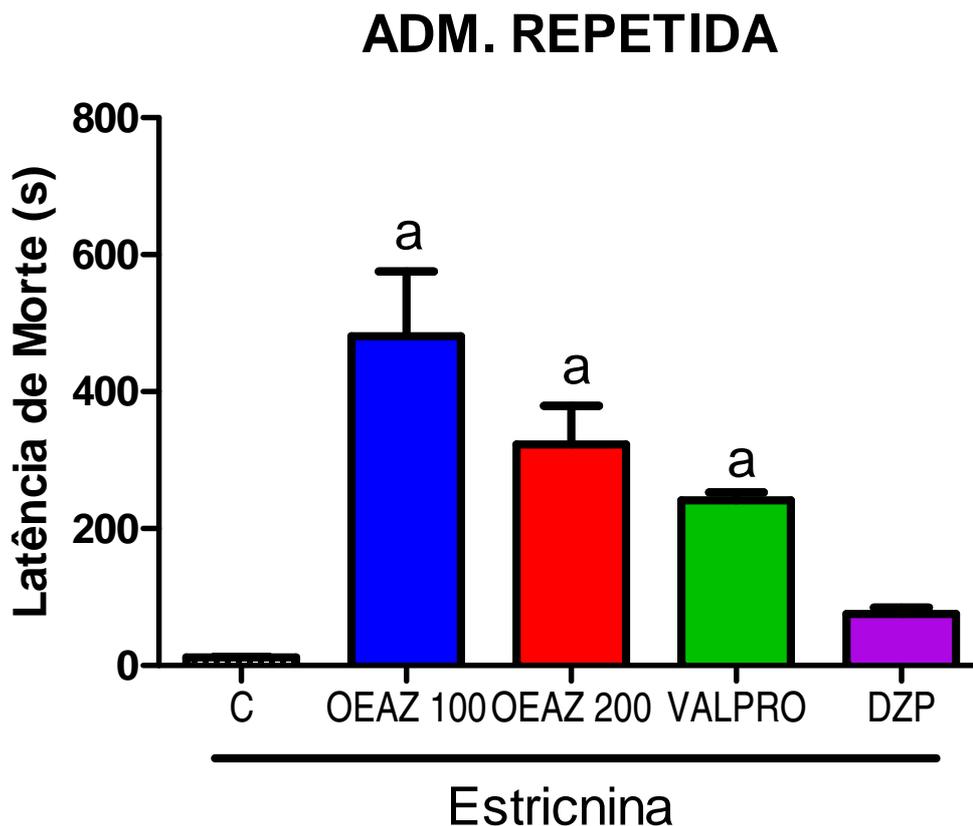
No modelo de convulsão induzida por Estricnina na dose de 2 mg/kg (ESTRIC 2) em tratamento subcrônico (5 dias), foram avaliados dois parâmetros: tempo de latência de convulsão (tempo em que o animal leva para apresentar a primeira convulsão) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração da droga padrão para o modelo comportamental e morte dos animais).

A **Figura 25** mostra que o OEAZ 100 e o VALPRO 200 apresentaram efeito anticonvulsivante prolongando a latência de convulsão, semelhantemente, em comparação ao controle. O OEAZ 200 apresentou significativo efeito anticonvulsivante, quando comparado ao controle, prolongando a latência de convulsão com efeito maior que as drogas anticonvulsivantes padrão. Entretanto, o DZP 1, mesmo sendo uma droga anticonvulsivante padrão, não demonstrou efeito sobre a latência de convulsão. (Controle ESTRIC 2 =  $27,29 \pm 3,89$ ; OEAZ 100 =  $202,9 \pm 14,88$ ; OEAZ 200 =  $347,3 \pm 74,95$ ; VALPRO 200 =  $197,3 \pm 8,47$ ; DZP 1 =  $30,71 \pm 1,52$ ).

Na **Figura 26**, observa-se que o OEAZ 100 e OEAZ 200 apresentaram efeitos anticonvulsivantes sobre o grupo controle, prolongando a latência de morte, com resultados melhores que os apresentados pelo grupo VALPRO 200. O mesmo não é observado quanto ao DZP 1 que não prolongou a latência de morte quando em comparação ao grupo controle. (Controle ESTRIC 2 =  $12,14 \pm 0,85$  segundos; OEAZ 100 =  $669,3 \pm 204,8$  segundos; OEAZ 200 =  $445,9 \pm 131,6$  segundos; VALPRO 200 =  $241,4 \pm 11,32$  segundos; DZP 1 =  $75,71 \pm 9,38$  segundos).



**FIGURA 25.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Estricnina (ESTRIC 2 mg/kg, i.p.) em administração repetida. As colunas representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos <sup>a,b</sup> $p < 0.05$  comparados ao controle e OEAZ 100 mg/kg, respectivamente.



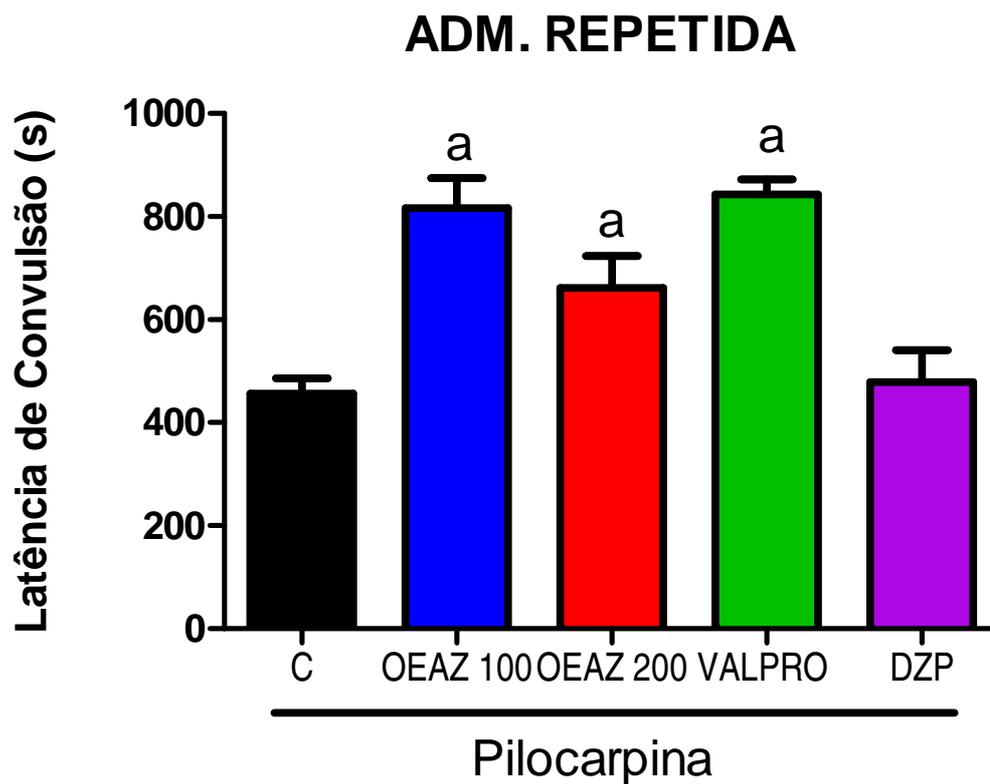
**FIGURA 26.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p.) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Estricnina (ESTRIC 2 mg/kg, i.p.) em administração repetida. As colunas representam média ± erro padrão da média (EPM) analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle <sup>a</sup>p < 0,05.

### 5.7 Teste das convulsões induzidas por Pilocarpina 400 mg/kg (PILO 400) em administração repetida

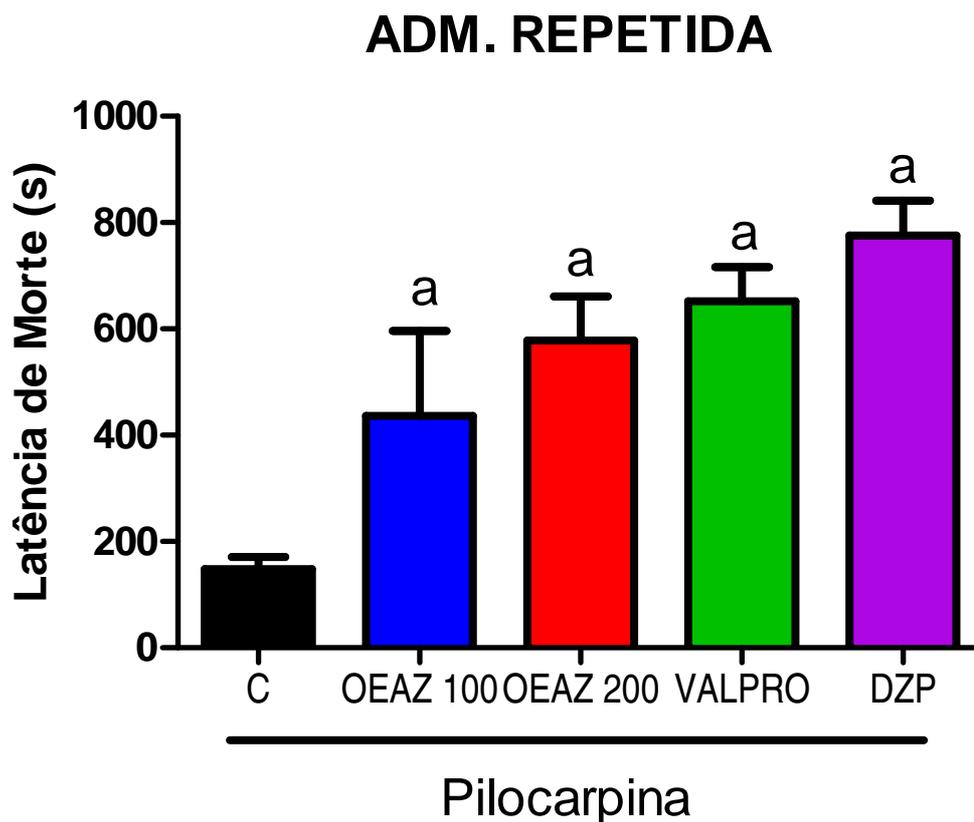
No modelo de convulsão induzida por Pilocarpina na dose de 400 mg/kg (PILO 400) em tratamento subcrônico (5 dias), foram avaliados dois parâmetros: tempo de latência de convulsão (tempo em que o animal leva para apresentar a primeira convulsão) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração da droga padrão para o modelo comportamental e morte dos animais).

Na **Figura 27**, o OEAZ 100 e o VALPRO 200 mostraram efeito anticonvulsivante prolongando o tempo de latência de convulsão, comparado ao controle. O OEAZ 200 neuroprotegeu o grupo, prolongando a latência de convulsão com relação ao controle. O DZP 1 não mostrou efeito significativo sobre a latência de convulsão, comparado ao controle. (Controle PILO 400 =  $456,3 \pm 30,22$ ; OEAZ 100 =  $816,0 \pm 58,71$ ; OEAZ 200 =  $661,0 \pm 62,44$ ; VALPRO 200 =  $842,8 \pm 29,21$ ; DZP 1 =  $479,1 \pm 61,28$ ).

A **Figura 28** mostra efeitos significativos, sobre a latência de morte, de OEAZ 100, OEAZ 200, VALPRO 200 e DZP 1, comparado ao controle. (Controle PILO 400 =  $147,6 \pm 24,08$ ; OEAZ 100 =  $435,9 \pm 160,1$ ; OEAZ 200 =  $577,9 \pm 82,98$ ; VALPRO 200 =  $651,8 \pm 64,46$ ; DZP 1 =  $775,6 \pm 65,98$ ).



**FIGURA 27.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão induzida por Pilocarpina (PILO 400 mg/kg, i.p.) em administração repetida. As colunas representam média ± erro padrão da média (EPM) analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle <sup>a</sup>p< 0,05.



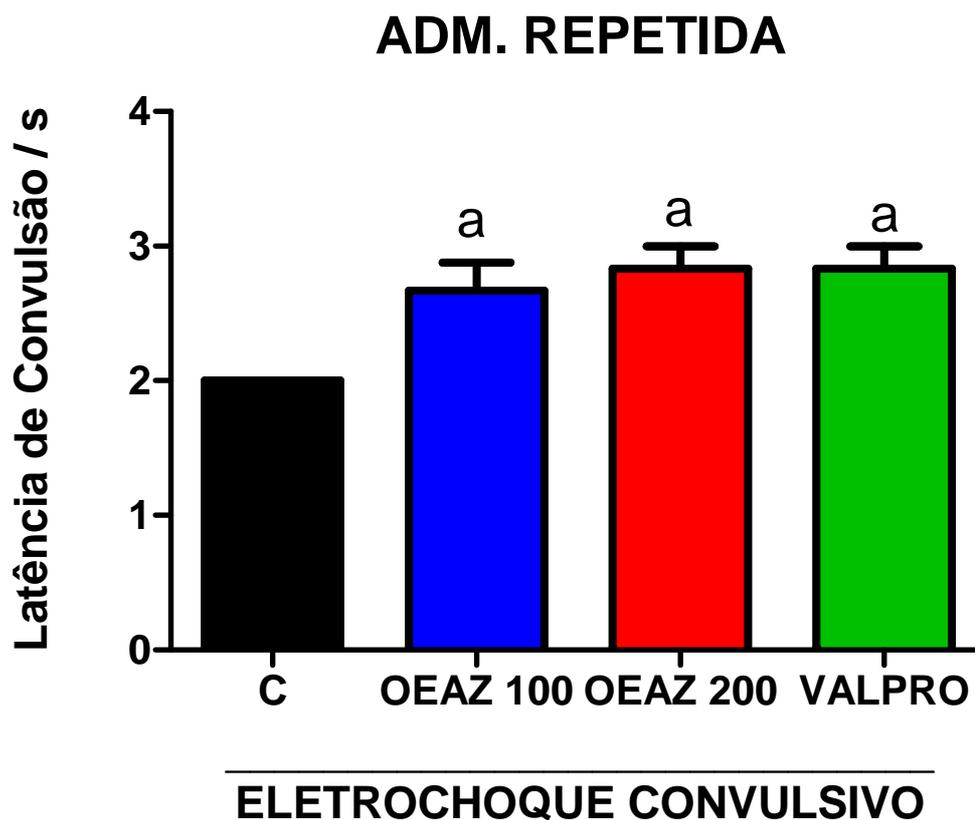
**FIGURA 28.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte induzida por Pilocarpina (PILO 400 mg/kg, i.p.) em administração repetida. As colunas representam média ± erro padrão da média (EPM) analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle <sup>a</sup> $p < 0.05$ .

### 5.8 Teste das convulsões induzidas por Eletrochoque (ECS) em tratamento repetido

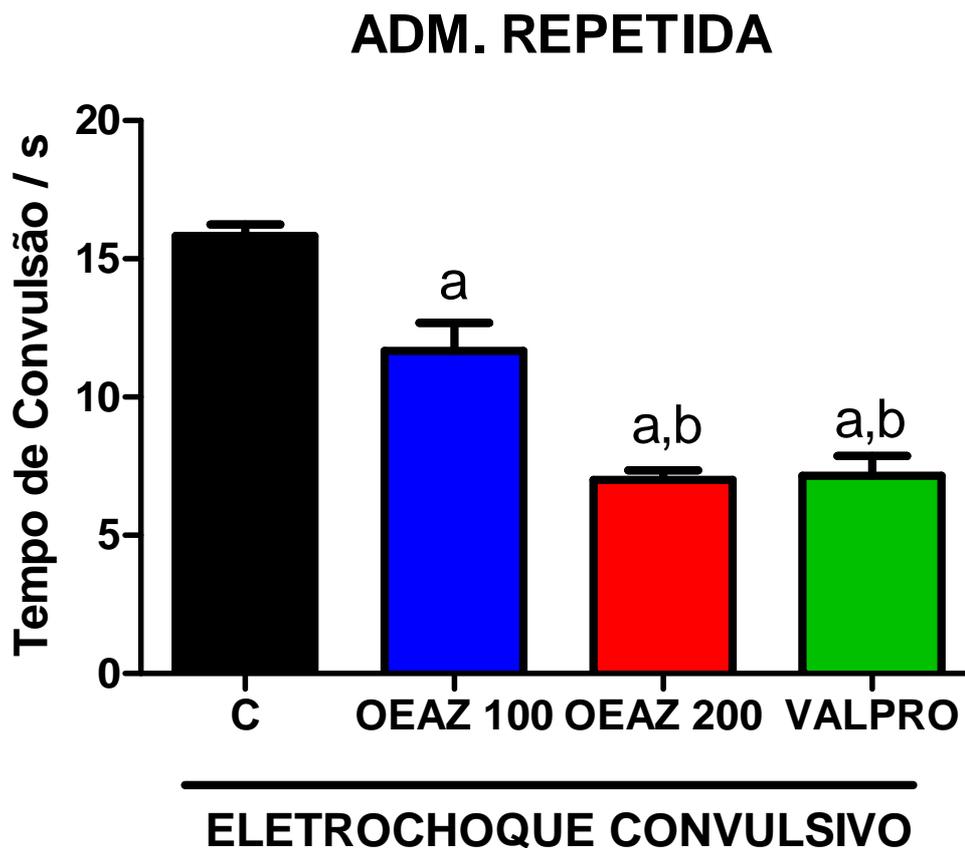
No modelo de convulsão induzida por eletrochoque, foram avaliados dois parâmetros: tempo de latência de convulsão (tempo em que o animal leva para apresentar a primeira convulsão) e tempo de estiramento (tempo de convulsão).

Na **Figura 29**, pode-se observar que OEAZ 100 e OEAZ 200 prolongaram a latência de convulsão, em relação ao grupo controle, apresentando um efeito neuroprotetor e anticonvulsivante semelhante ao VALPRO 200 (Controle ECS =  $2,00 \pm 0,0$ ; OEAZ 100 =  $2,66 \pm 0,21$ ; OEAZ 200 =  $2,83 \pm 0,16$ ; VALPRO =  $2,83 \pm 0,16$ ).

O OEAZ 100 apresentou efeito anticonvulsivante na redução do tempo de estiramento, quando comparado ao grupo controle. Já o OEAZ 200 apresentou, juntamente, com o VALPRO 200 um significativo efeito anticonvulsivante em comparação ao controle, reduzindo o tempo de convulsão como mostra a **Figura 30**. (Controle ECS =  $15,17 \pm 0,79$ ; OEAZ 100 =  $11,71 \pm 0,56$ ; OEAZ 200 =  $10,50 \pm 0,59$ ; VALPRO =  $9,215 \pm 0,24$ ).



**FIGURA 29.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre a latência de convulsão em administração repetida. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste post hoc. Valores significativos <sup>a</sup>p<0.05 comparados ao controle.



**FIGURA 30.** Efeitos do OEAZ (100mg/kg e 200mg/kg, i.p) e das drogas anticonvulsivantes Valproato (VALPRO 200 mg/kg, i.p.) e Diazepam (DZP 1mg/kg, i.p.) sobre tempo de estiramento (tempo de convulsão) em administração repetida. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste post hoc. Valores significativos <sup>a,b</sup>p<0.05 comparados ao controle e OEAZ 100 mg/kg, respectivamente.

## 6. DISCUSSÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2011), a epilepsia é uma das mais comuns doenças neurológicas graves, afetando mais de 50 milhões de pessoas em todo o mundo. As convulsões são causadas por súbitas, excessivas e recorrentes descargas eléctricas a partir de células do cérebro (RODRIGUES et al, 2012). Como convulsões é o principal sintoma da epilepsia, anticonvulsivantes são utilizados clinicamente no tratamento de crises epilépticas (MACKEY, 2010).

Atualmente, o tratamento farmacológico da epilepsia consiste na utilização de drogas capazes de potencializar a ação de neurotransmissores inibitórios, tais como o GABA, que, através da abertura dos canais aniônicos de cloreto, hiperpolariza a célula e, desta forma, impede ou minimiza o desenvolvimento de descargas elétricas mais fortes e recorrentes. Os benzodiazepínicos consistem na maior classe de fármacos utilizados (principalmente no grande mal), e o diazepam, o midazolam, e o bromazepam são os principais representantes desta classe que atuam facilitando a abertura dos canais de cloreto e, desta forma, potencializando as ações do GABA.

O valproato é a droga de escolha em muitas síndromes epilépticas, pelo fato de possuir um grande espectro de ação o que se deve a vários mecanismos de ação, alguns ainda não totalmente conhecidos. Sabe-se que o Valproato aumenta os níveis do GABA, bloqueia os canais de sódio e ativa a condução de potássio dependente do cálcio. O fato de o Valproato apresentar dois tipos de resposta, a precoce e a tardia, sugere que tenha inicialmente uma ação extracelular, no nível de membrana, e posteriormente intracelular, dependente de transporte ativo através desta (YACUBIAN, 2004).

Embora, estas drogas possam controlar ou reduzir o ataque epiléptico, em certa medida, ainda um grande número dos pacientes sofrem de efeitos secundários destes fármacos antiepilépticos (LÖSCHER E LEPPIK, 2002).

Neste contexto, lembramos que por séculos, as plantas foram a única fonte de agentes terapêuticos para o homem. No início do século XIX, com o desenvolvimento da química farmacêutica, as plantas representaram a fonte principal de substâncias para o desenvolvimento de medicamentos. Atualmente, apesar do grande desenvolvimento

da síntese orgânica e de novos processos biotecnológicos, 25% dos medicamentos prescritos nos países industrializados são originários de plantas e 120 compostos de origem natural, obtidos a partir de cerca de 90 espécies de plantas, são utilizados na terapia moderna (HOSTETTMANN et al., 2003). Cerca de 75% da população mundial utiliza as plantas medicinais no tratamento de enfermidades, devido às características desejáveis associadas ao uso, como eficácia, baixo risco, reprodutibilidade e constância de qualidade. Elas têm sido utilizadas na assistência primária à saúde com excelentes resultados em muitos países da América Latina, Europa e extensamente na Ásia, em razão da presença de substâncias ativas como taninos, alcalóides, compostos fenólicos, óleos essenciais e vitaminas (KOSEKI et al., 2002, citado por VIEIRA et al., 2007).

O Brasil possui uma das mais ricas biodiversidades do planeta, com milhares de espécies em sua flora e fauna dentre elas a *Alpinia zerumbet*, conhecida popularmente por seus efeitos diuréticos, carminativos, estomáquicos, anti-eméticos, espasmolíticos, antiinflamatórios, antiofídicos, anti-histéricos, no combate ao reumatismo e como tônico geral (CRUZ, 1965; ALMEIDA, 1993). Neste caso, o conhecimento científico associado ao conhecimento popular torna o presente estudo válido, visto que a literatura disponível ainda não oferece informações suficientes sobre os efeitos do OEAZ sobre o SNC.

Este trabalho, procurou avaliar os efeitos neuroprotetores antiepilépticos do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (OEAZ) utilizando as concentrações de 100 mg/kg e 200 mg/kg (i.p.), através de modelos comportamentais quimioconvulsivantes ou de convulsões induzidas por Pentilenotetrazol na concentração de 85 mg/kg (PTZ 85 i.p.), por Estricnina na concentração de 2 mg/kg (ESTRIC 2 i.p.), por Pilocarpina na concentração de 400 mg/kg (PILO 400 i.p.) e da indução de convulsão através de Eletrochoque (ECS), todos em modelo agudo (tratamento em um dia) e em administração repetida (tratamento em cinco dias).

O Pentilenotetrazol (PTZ) é o agente convulsivante mais comumente utilizado em modelos animais para o rastreamento de drogas com possíveis propriedades e potencial anticonvulsivo (SILVA et al., 2009). A administração do presente convulsivante químico leva a uma diminuição da função do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) (neurotransmissão inibitória) e a estimulação e modificação da densidade ou da

sensibilidade de diferentes subtipos de receptores glutamato (a neurotransmissão excitatória) (WHITE et al., 2007).

O teste de Pentilenotetrazol induz as crises mioclônicas generalizadas e clônicas pela administração (normalmente s.c. ou i.p.) de doses convulsivas sistêmica de PTZ, sendo utilizado para representar um modelo válido, mimetizando ausência generalizada e/ou crises mioclônicas em humanos (LÖSCHER, 1998).

Nesse modelo de convulsão por PTZ os dados mostraram no tratamento agudo, um efeito neuroprotetor significativo de OEAZ 100 nos parâmetros latência de convulsão (LC) e latência de morte (LM). No entanto, nenhum efeito anticonvulsivo ou neuroprotetor significativo foi observado na concentração de 200 mg/kg.

Em estudos feitos através de amostras do óleo essencial *A. zerumbet*, os principais componentes encontrados foram terpinen-4-ol, 1,8 cineol e terpineno  $\gamma$  (ZOGHBI et al., 1999; ELZAAWELY et al., 2007a; VICTÓRIO et al. 2009). Segundo Victório et al. (2009), há uma grande porcentagem de monoterpenos oxigenados (52,5%) presentes em sua composição.

Trabalhos têm relatado que os monoterpenos e seus derivados sintéticos apresentam várias propriedades farmacológicas, onde podemos citar algumas delas no sistema nervoso central (SNC) tais como antinociceptiva; anticonvulsivante e neuroprotetora como: o limoneno (VIANA et al. 2000), o citronelol (DE SOUSA et al. 2006) e o  $\alpha$ -Terpineol (DE SOUSA et al. 2007).

Muitos componentes presentes em óleos voláteis potenciam a neurotransmissão GABAérgica, indicando a sua potencialidade para o desenvolvimento de fármacos ansiolíticos e/ou anticonvulsivantes. Um comportamento semelhante foi observado para os isômeros R(-) e S(+) da carvona, que aumentaram o tempo de latência de convulsões induzidas por pentilenotetrazol e picrotoxina, respostas mediadas por receptores GABA<sub>A</sub>, indicando um efeito depressor sobre o SNC (PERGENTINO DE SOUZA et al., 2007). Estudos realizados por nosso grupo de pesquisa observou que o óleo essencial de *A. zerumbet*, também, apresentou efeito depressor sobre o SNC (ARAUJO et al, 2009).

O OEAZ, como já mencionado, apresenta em sua constituição 52,5% de monoterpenos oxigenados, presentes também em muitos óleos voláteis que apresentam propriedades farmacológicas anticonvulsivantes, em estudos acima citados, nos fazem entender o motivo pelo qual o OEAZ 100 obteve resultados anticonvulsivantes, prolongando a LC e LM em modelo agudo e em administração repetida.

Além disso, estudando a atividade antioxidante de espécies cultivadas em Okinawa (Japão), utilizadas como comestíveis e medicinais, Masuda et al. (2002) comprovaram forte atividade redutora do radical 1.1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) promovida pelos extratos do rizoma de *Alpinia zerumbet* e potente atividade inibitória da lipoperoxidação promovida por extratos de frutos e rizomas. Concluíram por uma potente capacidade antioxidativa para a espécie, já referida por eles em estudos quando isolaram antioxidantes do rizoma de *Alpinia zerumbet*. Em ensaios fitoquímicos realizados por Elzaawely et al (2007a; 2007b), foram isolados do óleo essencial, compostos fenólicos e dihidro-5,6-dehidrokawaina das folhas, rizomas, flores e sementes de *Alpinia zerumbet*, onde foi demonstrado que esses compostos apresentam uma atividade antioxidante.

Mostrando que, através de estudos, um crescente corpo de evidências sugere que a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) pode ser a base dos efeitos neurotóxicos de PTZ (OBAY et al., 2008; SILVA et al, 2009), causando dano oxidativo para proteínas e lipídios, sugerimos dessa forma que os efeitos neuroprotetores de OEAZ podem também estar em sua atividade antioxidante.

OEAZ 200, na dose aguda, não apresentou efeito neuroprotetor anticonvulsivante situação que pode ser explicada pelo fato de que óleos essenciais, contendo em sua constituição monoterpenos oxigenados, dividem com o pentilenotetrazol a mesma ação inibitória sobre a respiração celular em fatias de cérebro de ratos, levando a perda do gradiente tecidual de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  e ao aumento significativo da excitabilidade celular, podendo até mesmo atuar como pró-convulsivante, segundo Burkhard (1999). Uma possível explicação para a maior dose estudada, não prolongar tempo de LC nem LM em modelo agudo.

Surpreendentemente, em administração repetida OEAZ 200, atuou com efeito neuroprotetor anticonvulsivante, prologando tanto tempo de LC quanto tempo de LM. Isso nos mostra a necessidade de obter mais esclarecimentos quanto ao mecanismo de ação dos princípios ativos de OEAZ.

A estriçnina é um alcalóide natural, obtido a partir das sementes secas de *Strychnos nux-vomica*, e de *S. ignatiti* uma árvore nativa da floresta tropical Asiática e Norte da Austrália (TILLEY et al., 2003). Em relação à dose tóxica, Nicholson (2004) cita doses de 0,25mg/kg a 2mg/kg como sendo letais para a maioria dos animais. A estriçnina provoca convulsões, bloqueando, principalmente na coluna vertebral, a resposta inibitória da glicina, que age através de um receptor que se assemelha receptor GABA<sub>A</sub>, um canal de cloro multimérico (VAN DEN EYNDEN, 2009) e atua na forma de antagonismo competitivo e reversível (ANDRADE, 2003; TILLEY et al., 2003). Spinosa et al. (2008) explica que a estriçnina possui estrutura semelhante à glicina, por isso, resulta em sinais nervosos e, ainda, na diminuição do efeito inibitório pós-sináptico do arco reflexo, causando uma excitação incontrolada do reflexo espinal (ANDRADE, 2003, SORACI et al., 2001).

Nos testes de indução de convulsão por Estriçnina em modelo de tratamento agudo e em administração repetida, foi observado significativo efeito anticonvulsivante do OEAZ nas duas doses estudadas. Correlacionamos estes resultados à presença de monoterpenos na constituição de OEAZ, respaldando com estudos mencionados abaixo.

Dentre os metabólitos secundários vegetais, os terpenóides, substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades do isopreno, constituem o maior grupo. Na medicina popular, assim como na terapêutica, plantas contendo derivados terpênicos têm sido usadas como sedativas, tranqüilizantes e anticonvulsivantes. Muitos óleos voláteis possuem uma grande variedade de atividades farmacológicas, tais como ansiolítica, anticonvulsivante e antinociceptiva. Compostos como linalool, limoneno e citronelol possuem ação anticonvulsivante, enquanto mentol e mircenol, atividade analgésica. Muitos derivados monoterpênicos têm demonstrado atividades sobre o SNC (PERGENTINO DE SOUZA et al., 2007; SOUSA et al., 2007; PERAZZO et al., 2007, 2008; LEITE et al., 2008).

Dentre os fármacos utilizados nos nossos experimentos como padrão anticonvulsivante, observamos que Diazepam não obteve resultados significativos, sem prolongar LC e LM com relação ao grupo controle. Este fato ocorre provavelmente por seu mecanismo de ação não estar relacionado com a neurotransmissão glicinérgica, mas sim com a neurotransmissão GABAérgica, facilitando, dessa forma, a abertura dos canais de Cl<sup>-</sup> e com isso a ação do GABA.

Interessantemente, os resultados mostraram que o OEAZ protege os camundongos, prolongando a LC e a LM, em modelo agudo e de administração repetida, da atividade convulsiva de estriçnina. Este recurso pode ser interessante quando se avalia o potencial farmacológico de um novo candidato a fitomedicamento com o objetivo de produzir neuroproteção em resposta a convulsões induzidas por estriçnina. O desenvolvimento atual de novas drogas anticonvulsivantes requer a escolha apropriada de modelos animais de epilepsia para a identificação da atividade anticonvulsivante, bem como de novos mecanismos de ação. Portanto, os modelos de convulsão em animais de laboratório ainda são o pré-requisito mais importante na pesquisa pré-clínica para novas drogas anticonvulsivantes (LOSCHER; SCHMIDT, 1988).

Diante da ausência de estudos anteriores relacionando a *Alpinia* com mecanismos anticonvulsivos, sugerimos um possível envolvimento com a via glicinérgica, com necessidade de mais estudos que possam viabilizar esta hipótese.

A pilocarpina é o principal alcaloide isolado das folhas dos arbustos *Pilocarpus microphyllus* stapf, Família Rutaceae. Apresenta potente atividade colinérgica funcionando como agente epileptogênico efetivo. Desta forma é capaz de produzir em ratos e em camundongos, uma sequencia de alterações comportamentais, automatismos faciais e crises motoras límbicas que evoluem progressivamente para o “*status epilepticus*”, constituindo assim um modelo de epilepsia do lobo temporal (TURSKI et al., 1984; COSTA et al., 1998; PINHEIRO, 2002).

A ativação colinérgica é essencial para o início do processo convulsivo em modelos de epilepsia do lobo temporal, visto que estas convulsões podem ser bloqueadas pelo pré-tratamento com o antagonista muscarínico atropina (MARINHO et

al., 1998; DE BRUIN et al., 2000). A pilocarpina exacerba a atividade colinérgica provavelmente por influência direta, aumentando a ação da ACh circulante, modificando o *binding* dos receptores muscarínicos (HRUSKA et al., 1984) e diminuindo a atividade acetilcolinesterásica (IMPERATO et al., 1998).

Embora o mecanismo das crises convulsivas induzidas por pilocarpina e estado de mal epiléptico (EME) não esteja completamente esclarecido, sabe-se que este depende da ativação muscarínica e também de alterações nas atividades da colina acetiltransferase (ChAT) e da enzima acetilcolinesterase (AChE) em hipocampo de ratos (FREITAS et al., 2010). Após a toxicidade induzida por uma fase inicial colinérgica, ocorre uma fase distinta não colinérgica, em que há produção excessiva de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), liberado durante a dismutação de ânion superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ) que pode inibir a atividade da superóxido dismutase durante esta fase aguda das convulsões induzidas por pilocarpina (TOMÉ; FENG; FREITAS, 2010).

Convulsões induzidas por pilocarpina produzem disfunções diversas em muitas regiões do cérebro (por exemplo: hipocampo, estriado, córtex frontal entre outros (FREITAS et al., 2005) como consequência da ruptura de conexões neuronais entre as regiões cerebrais. As mudanças comportamentais durante as convulsões em ratos têm sido amplamente relatadas. Esses comportamentos são quantificáveis, replicáveis e revertidos pela administração aguda de anticonvulsivantes e compostos antioxidantes (XAVIER et al., 2007; MILITÃO; FREITAS, 2010; FERREIRA, FREITAS, 2010) capazes de reduzir o estresse oxidativo induzido por convulsões neste modelo.

O estresse oxidativo é um importante processo que vem sendo relatado na patogênese de algumas condições que afetam o sistema nervoso central (SNC), como é o caso das doenças neurodegenerativas, tipo epilepsia e demência. Este fato torna-se facilmente compreensível, visto que o SNC é altamente sensível ao estresse oxidativo, em face do alto consumo de oxigênio; do alto conteúdo lipídico, principalmente de ácidos graxos poliinsaturados, dos altos níveis de ferro e da baixa defesa antioxidante (HALLIWELL, 2006; VALKO et al., 2007).

A peroxidação de lipídeos, indicador de estresse oxidativo, foi alterada em tecido cerebral de ratos em convulsões induzidas por pilocarpina e ácido kainico (DAL-

PIZZOL et al., 2000). Pelo constante uso do oxigênio nas mitocôndrias para suprir a energia necessária são gerados os radicais livres, tornando o cérebro particularmente suscetível ao estresse oxidativo (GILGUN-SHERKI et al., 2002). As alterações na composição de ácido graxos de membrana das células neuronais (um aumento de ácidos graxos insaturados) e mudanças na fluidez da membrana foram observadas durante convulsões induzidas por pilocarpina (COSTA et al., 2012; FREITAS, 2009)

Há um acúmulo de radicais livres após o estado de mal epiléptico induzido pela pilocarpina e alterações oxidativas em outros parâmetros durante a fase aguda. Este achado sugere que as crises epiléticas, estado de mal epiléptico e morte induzidos por pilocarpina tem uma grande participação do estresse oxidativo cerebral, que está intimamente relacionado com o mecanismo de propagação e/ou manutenção do foco epiléptico pela pilocarpina. Estes resultados sugerem que os radicais livres, bem como a ativação do receptor muscarínico parecem estar envolvidos na gênese das crises epiléticas e danos cerebrais (OLIVEIRA, 2012).

Os compostos antioxidantes protegem os sistemas biológicos contra os efeitos potencialmente danosos de reações destas espécies reativas de oxigênio com diversos alvos celulares. A peroxidação lipídica pode ser inibida por antioxidantes que interrompem a cadeia de peroxidação reagindo com os radicais peroxila ou alcoxila e, desta forma, gerando um hidroperóxido e um radical livre formado a partir do antioxidante. Uma alternativa para prevenir a lesão celular causada pela peroxidação lipídica é o aumento de antioxidantes endógenos através da ingestão de antioxidantes (FANG et al., 2002; FREDSTROM, 2002; VALKO et al., 2007).

Estudos realizados por nosso grupo de pesquisa observou que em condições experimentais, OEAZ foi capaz de prevenir a alteração induzida pelo estresse oxidativo em todo cérebro, contribuindo para o efeito antioxidante do óleo (ARAUJO, 2011).

Os óleos essenciais são produtos naturais que apresentam uma variedade de propriedades biológicas, tais como analgésico (ALMEIDA; NAVARRO; BARBOSA FILHO, 2001), anticonvulsivantes (ALMEIDA; MOTTA; LEITE, 2003) e ansiolítico (ALMEIDA et al., 2004; UMEZU et al., 2002). Estes efeitos são atribuídos aos monoterpenos que são os componentes químicos principais destes óleos essenciais. Por

exemplo, o monoterpeno ciano-carvona, tem sido relatado como tendo atividade anticonvulsiva em camundongos. Do mesmo modo, ciano-carvona apresentou aumentos significativos na latência de convulsões induzidas por pilocarpina (COSTA et al., 2012).

Em modelo de administração repetida, se observa efeitos neuroprotetores e anticonvulsivantes de OEAZ 100 e OEAZ 200, prolongando o tempo de LC e LM. Assim, é percebido que o efeito antioxidante do óleo essencial de *Alpinia*, conforme relatado em estudos anteriormente citados é o provável motivo do efeito neuroprotetor e antiepiléptico e, só pôde ser notado em administração repetida, ou seja, devido a exposição prolongada da absorção de compostos antioxidantes. Lembrando, ainda, que os monoterpenos, principais constituintes de OEAZ, possuem propriedades anticonvulsivantes, segundo estudos acima mencionados.

Em tratamento agudo o OEAZ não foi capaz de prolongar LC e LM, o que nos sugere que seu mecanismo de ação não envolve diretamente antagonismo dos receptores muscarínicos.

O modelo de pilocarpina apresenta relevância preditiva em relação aos testes de compostos com potencial atividade clínica (BARROS et al., 2007; MILITÃO; FERREIRA; FREITAS, 2010). Além disso, o modelo de pilocarpina é assumido para identificar a eficácia de compostos anticonvulsivantes (PATEL, 2004; BARROS et al., 2007). Os resultados do presente estudo mostram que o OEAZ pode ser eficaz em administração repetida, dado as propriedades anticonvulsivantes referidas aos monoterpenos e aos seus efeitos antioxidantes, protegendo o animal contra o estresse oxidativo provocado pela exposição de pilocarpina.

O Eletrochoque (ECS) é um procedimento que consiste na indução de convulsões generalizadas, com duração de 20 a 150 segundos, pela passagem de corrente elétrica pelo cérebro (SADOCK & SADOCK, 2000). É uma terapia considerada benéfica, embora apresente alguns efeitos adversos cardio-circulatórios, convulsão e apnéia prolongada, cefaléia, dores musculares, náusea, precipitação de surto maníaco e disfunções cognitivas. Estes efeitos têm sido minimizados através de uma avaliação clínica individualizada dos pacientes e adaptações da técnica (APA, 2001), permanecendo um dos mais importantes efeitos colaterais, as disfunções cognitivas

(RAMI-GONZALES et al, 2001). Existem teorias de que os déficits cognitivos poderiam refletir dano cerebral (FRIEDBERG, 1977; BREGGNIN, 1993).

A maioria dos efeitos colaterais é transitória e benigna (SADOCK & SADOCK, 2000; APA, 2001). Os efeitos sobre a memória, geralmente transitórios, possivelmente sejam a maior fonte de pressões negativas quanto ao tratamento. A ECT (Eletroconvulsoterapia) está associada a dificuldades de recordação (amnésia retrógrada) e déficit de novos aprendizados (amnésia anterógrada) (ANDRADE et al, 2002a; RAMI-GONZALEZ et al, 2001). Todavia, ressaltamos que existem relatos de amnésia permanente para eventos ocorridos próximos aos dias do tratamento (SQUIRE & SLATER, 1983).

Embora, efeitos colaterais sobre a memória têm sido associados ao número de seções, não têm sido relatados efeitos cognitivos severos em pacientes com longos períodos de eletroconvulsoterapia de manutenção (ECTM) (WIJKSTRA & NOLEN, 2005).

Os mecanismos de ação (eventos neurobiológicos implicados nos efeitos positivos) da ECT permanecem obscuros, isso não deve ser uma surpresa, visto que a informação sobre muitos transtornos psiquiátricos ainda é muito incompleta. Mais de cem teorias já propostas para explicar os benefícios terapêuticos do ECT. Elas variam de hipóteses de processos psicológicos e psicodinâmicos a alterações em neurotransmissores, efeitos neuroendócrinos, alterações em sistemas de segundos mensageiros e expressão gênica (SACKEIM, 1994). Obviamente, um evento tal qual a crise convulsiva, ainda mais provocada pela aplicação de uma descarga elétrica direta, é a manifestação dramática de uma diversidade de processos bioquímicos subjacentes.

A problemática na identificação dos mecanismos de ação do ECT recai no fato de que afeta sistematicamente o sistema nervoso central, além da dificuldade de definir neuroquimicamente as doenças para as quais é empregado. Dessa forma, a estimulação eletroconvulsiva (ECS), aplicada experimentalmente a animais tem sido largamente utilizada como um modelo de ECT (GREEN & NUTT, 1987). Os modelos de ECS crônico (3 a 8 seções) e agudo (1 seção) são rotineiramente publicados e aceitos como o equivalente animal da ECT em humanos (CERESER et al, 2006; WENNSTROM et al,

2006; HELLSTEN et al, 2005). Os parâmetros do estímulo elétrico são 150 volts, 60 hertz, por dois segundos. Choques dentro dessas especificações são capazes de induzir nos animais uma crise convulsiva tônico-clônica, generalizada, muito semelhante a que o procedimento de ECT induz em humanos (BARRICHELO et al, 2004).

Na ECT, o procedimento pode causar diminuição na memória, caracterizando a amnésia retrógrada e anterógrada, podendo ser explicadas por uma redução no número de receptores muscarínicos em diversas regiões do cérebro (GLEITER & NUTT, 1989). Adicionalmente, mudanças no sistema glutamatérgico podem estar vinculadas (CHAMBERLIN & TSAI, 1998). De acordo com essas hipóteses, a ECT causa um insulto neuronal por excessiva liberação de aminoácidos excitatórios e ativação de seus receptores. Esses insultos no hipocampo durante as sessões de ECT provavelmente são importantes para a disfunção no processo de consolidação da memória (ERAKOVIC et al., 2001).

Em outro estudo prévio, (BARRICHELO et al, 2004b), não foi encontrado dano oxidativo até 30 dias após ECS agudo e crônico: em hipocampo, estriado e cerebelo, parecendo possuir mecanismos antioxidantes suficientes para evitar dano oxidativo nestas estruturas. Em contraste, a ocorrência de dano oxidativo no córtex, sugere que esta estrutura é mais suscetível ao estresse agudo após o ECS e, lembramos, então, do fato de que as crises de epilepsia podem ocorrer devido a diversas causas, como às que são secundárias a prévia lesão do córtex cerebral (LIMA, 2005).

Comparando-se com modelos farmacológicos, o dano oxidativo nos modelos da pilocarpina e do ácido kainico parece ser, ao menos em parte, relacionado aos efeitos crônicos da administração dos fármacos (KLAMT et al., 2001). A diferença nos parâmetros de dano oxidativo pode explicar os diferentes prognósticos após ECS ou modelos da pilocarpina ou ácido kainico. No modelo da pilocarpina, todos os animais invariavelmente desenvolvem convulsões espontâneas recorrentes e, no modelo do ácido kainico, cerca de 50% dos animais apresentam convulsões espontâneas recorrentes (DAL-PIZZOL et al., 2000). Nas convulsões induzidas por ECS, inclusive no protocolo crônico, não se observam convulsões espontâneas recorrentes em nenhum animal. Parece que há mecanismos diferentes envolvidos nos efeitos do ECS no SNC, quando comparados a outros modelos de convulsões animais.

Em modelo de convulsão induzido por ECS, foi utilizado apenas o Valproato como anticonvulsivante padrão, pois estudos afirmam que ele é capaz de inibir a extensão tônica das patas traseiras nas convulsões máximas por eletrochoque (GOODMAN & GILMAN, 2003). Já os benzodiazepínicos, classe na qual está inserido o Diazepam, apresentam pouca ação nas convulsões induzidas por eletrochoque máximo (GOODMAN & GILMAN, 2003), motivo pelo qual não o utilizamos para modelo de ECS.

Em nossos modelos experimentais de ECS agudo, o OEAZ não apresentou nenhum efeito significativo na redução do tempo de LC. Contudo, no tempo de estiramento ou tempo em que o animal permanece em convulsão, o OEAZ nas doses estudadas apresentou efeito anticonvulsivante significativo.

Em administração repetida o OEAZ apresentou significativo efeito anticonvulsivante, reduzindo o tempo de estiramento e, também a LC com a maior dose estudada mostrando um perfil semelhante ao VALPRO. Sabendo que o óleo essencial de *Alpinia* apresenta em sua composição monoterpenos, além de outros compostos antioxidantes, correlacionamos estes dados a outros estudos, citados abaixo, que corroboram sua ação anticonvulsivante.

O linalool é um monoterpeno presente no óleo volátil de muitas plantas aromáticas. Muitas espécies que sintetizam essa substância são empregadas em práticas de medicina tradicional, como *Aeolanthus suaveolens* G. Dom (Lamiaceae) que é utilizado como anticonvulsivante na Amazônia brasileira (RE et al., 2000). Estudos farmacológicos com o linalool demonstraram que este apresenta um amplo espectro de ação em modelos experimentais de epilepsia em camundongos, destacando-se proteção contra convulsões induzidas por pentilenotetrazol, picrotoxina e eletrochoques (SILVA BRUM et al., 2001).

Outros óleos essenciais constituídos por monoterpenos apresentaram efeitos anticonvulsivantes, como o óleo essencial de *Artemisia dracuncululus* L. (Asteraceae), obtido das partes aéreas da planta, os óleos essenciais das folhas de *Laurus nobilis* Linn., Lauraceae, que tem sido usado como antiepiléptico na medicina tradicional iraniana. Os componentes do óleo essencial responsáveis por esse efeito podem estar

associados aos componentes presentes metileugenol, eugenol e pineno (SAYYAH, M. et al., 2002) e com o óleo essencial da raiz de *Angelica archangelica* também sendo seu efeito atribuído à presença de terpenos no óleo essencial (PATHAK, et al., 2010).

A capacidade de uma droga abolir convulsões tônicas produzidas por um eletrochoque agudo é forte indicativo de que a mesma pode ser um antiepilético eficaz para o “grande mal” (ANCA, 1993).

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diversos estudos publicados mostram que plantas, com uso na medicina popular, cujos componentes são majoritariamente terpenóides, apresentam propriedades depressoras sobre o SNC sendo utilizadas como tranquilizantes, ansiolíticos e anticonvulsivantes. O óleo essencial de *Alpinia zerumbet*, como outros óleos essenciais com propriedades anticonvulsivantes, possuem em sua constituição monoterpenos.

Vimos, pois, que OEAZ em tratamento agudo no modelo de PTZ, apresentou efeito neuroprotetor apenas na dose de 100 mg/kg em ambos os parâmetros estudados. Já em modelo de ESTRIC, as duas doses estudadas mostraram efeito anticonvulsivante. Em modelo de PILO nenhuma das doses ofereceu qualquer efeito neuroprotetor. No ECS, observa-se efeito anticonvulsivante, com relação à redução no tempo de estiramento, em ambas as doses comparadas ao controle.

Em tratamento repetido, o OEAZ apresentou efeitos anticonvulsivantes em todos os parâmetros analisados de todos os testes de indução de convulsão. Chamamos atenção para o fato de que OEAZ 100 e OEAZ 200 mostraram propriedades anticonvulsivantes, tanto em tratamento agudo quanto em administração repetida nos testes de estriquina, corroborando para um possível envolvimento da via glicinérgica, mas com necessidade de mais estudos que comprovem esta hipótese.

## 8. CONCLUSÃO

Com base nos dados apresentados, conclui-se que o óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (OEAZ) nas duas doses estudadas apresenta efeito neuroprotetor e anticonvulsivante, principalmente, nos grupos de tratamento repetido, possivelmente por suas propriedades antioxidantes, podendo esta ação estar diretamente ligada aos constituintes do óleo, como monoterpenos.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E. R. Plantas medicinais Brasileiras: conhecimentos populares e científicos. São Paulo: Hermus, 1993.

ALMEIDA, R.N., NAVARRO, D.S., BARBOSA-FILHO, J.M. Plants with central analgesic activity. *Phytomedicine* 8: 310-322, 2001.

ALMEIDA, N.R., MOTTA, S.C., LEITE, J.R. Óleos essenciais com propriedades anticonvulsivantes. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 2: 3-6, 2003.

ALMEIDA, R.N., MOTTA, S.C., BRITO, F.C., CATALANI, B., LEITE, J.R. Anxiolytic like effects of rose oil inhalation on the elevated plus maze test in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 77: 361-364, 2004.

AL-TAJIR, G.; STARR, B.S.; STARR, M.S. – Proconvulsant Effect of SKF 38393 Mediated by Nigral D1 Receptors. *Eur J Pharmacol* 162: 245-251, 1990a.

ANCA, J. M.; LAMELA M. & CALLEJA, J.M. Activity on the central nervous system of *Himantalia elongata*. *Planta Médica* 59: 218-20, 1993.

ANDRADE, Silvia Franco. MANUAL DE TERAPÊUTICA VETERINÁRIA, 2ed. São Paulo: Roca, 2003.

ANDRADE, C.; THYAGARAJAN, S.; VINOD, P.S.; SRIKANTH, S.N. et al. Effect of Stimulus Intensity and Number of treatments on ECS-related Seizure Duration and Retrograde Amnesia in Rats. *The Journal of ECT* 18: 197-202, 2002a.

A.P.A.American Psychiatric Association. The Practice of Eletroconvulsive Therapy: Recommendations for Practice, Training, and Privileging: a Task Force Report of the American Psychiatric Association(2nd ed.). Washington: American Psychiatric Association Press, 2001.

ARAUJO, F.Y.R. *et al.* Central nervous system effects of the essential oil of the leaves of *Alpinia zerumbet* in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 61: 1521–1527, 2009.

ARAUJO, F.Y.R. Avaliação dos possíveis efeitos antipsicóticos da alpinia zerumbet em camundongos.2011.115f. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, 2011.

ATTWELL, D. Brain uptake of glutamate: food for thought. *Journal of Nutrition*, v. 130, p.1023–1025, 2000.

BARICHELLO T, BONATTO F, FEIER G, MARTINS MR, MOREIRA JCF, DAL-PIZZOL F, IZQUIERDO I, QUEVEDO J. No evidence for oxidative damage in

hippocampus after acute and chronic electroshock in rats. *Brain Research* 1014:177-183, 2004 a.

BARICHELLO, T.; BONATTO, F.; AGOSTINHO, F.R.; REINKE, A.; MOREIRA, J.C.F.; DAL-PIZZOL, F.; IZQUIERDO, I.; QUEVEDO, J. Structure-Related Oxidative Damage in Rat Brain After Acute and Chronic Eletroshock. *Neurochemical Research* 29(9):1749-53, 2004 b.

BARONE, P.; PALMA, V.; DEBARTOMOLEMEIS, A.; TEDESCHI, E.; MUSCETTOLA, G.; CAMPANELLA, G. – Dopamine D1 and D2 Receptors Mediate Opposite Functions in Seizures Induced by Lithium-pilocarpine. *Eur J Pharmacol* 195: 157-62, 1991.

BARROS, D.O.; XAVIER, S.M.; BARBOSA, C.O.; SILVA, R.F.; FREITAS, R.L.; MAIA, F.D.; OLIVEIRA, A.A.; FREITAS, R.M.; TAKAHASHI, R.N. Effects of the vitamin E in catalase activities in hippocampus after status epilepticus induced by pilocarpine in Wistar rats. *Neuroscience Letters*, v. 416, p. 227-230, 2007.

BEAGLEHOLE, R., BONITA, R., KJELLSTROM, T. *Epidemiologia Básica*. 1a Edição, Lis Gráfica Editora Ltda, 1996.

BEN-ARI, Y. *et al.* Eletrographic, clinical and pathological alterations following systemic administration of kainic acid, bicuculdeoxyglucose or pentylenetetrazole: metabolite mapping using the deoxyglucose method with special reference to the pathology of epilepsy. *Neuroscience*, v. 6, p. 1361-1391, 1981.

BEN-ARI, Y.; TREMBLAY, E.; OTTERSEN, O.P. Injections of kainic acid into the amygdaloid complex of the rat: an electrographic, clinical and histological study in relation to the pathology of epilepsy. *Neuroscience*, v. 5, p. 515-528, 1980.

BERG, M. E. V. D. The ethnobotany of Amazonian Market. In: *Ethnobotany in the Neotropics*. New York, New York Botanical Garden, 1984.

BERKOVIC, S. F. NEWTON, M. R. SPECT Cerebral – Tomografia por Emissão de Fóton Único na Avaliação da Epilepsia Parcial. In: Cavalheiro, E. A., Costa, J.C., Palmi, A. and Yacubian, E.M.T.(eds.) *Fundamentos Neurobiológicos das Epilepsias. Aspectos clínicos e cirúrgicos*. São Paulo: Lemos Editorial, vol.1 cap.10, p. 673-685, 1998.

BLUM, D.; REED, M.; METZ, A. Prevalence of major affective disorders and maniac symptoms in persons with epilepsy: a community survey. *Neurology*, v. 58, (Suppl 4A): S175, 2002.

BOEK, C.R.; GANZELLA, M.; LOTTERMANN, A.; VENDITE, D. NMDA preconditioning protects against seizures and hippocampal neurotoxicity induced by quinolinic acid in mice. *Epilepsia*, v.45, n.7, p.745-749, July 2004.

BONNER, T. I.; BUCKLEY, N. J.; YOUNG, A. C.; BRANN, M. R. Identification of a family of muscarinic acetylcholine receptor genes. *Science*, v. 237, p. 527-532, 1987.

BORELLI, E.; BOZZI, Y. Dopamine D2 receptor signaling controls neuronal cell death induced by muscarinic and glutamatergic drugs. *Molecular and Cellular Neuroscience*. v. 19, p. 263-271, 2002.

BORMANN, J. Electrophysiology of GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>B</sub> receptor subtypes. *Trends Neuroscience*, v. 11, p. 112-116, 1988.

BOTSARIS, ALEXANDROS SPYROS. *Fitoterapia chinesa e plantas brasileiras*. São Paulo, Ícone, s/d, 1995.

BOWERY, N.G. GABA<sub>B</sub> receptor pharmacology. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v. 33, p. 109-147, 1993.

BREGGIN, P. *Toxic Psychiatry: Drugs and Electroconvulsive Therapy – The Truth and Better Alternatives*. London: Fontana, 1993.

BRUNEAU, E.G.; AKAABOUNE, M. Running to stand still: ionotropic receptor dynamics at central and peripheral synapses. *Mol Neurobiol*, v. 34, p.137-51, 2006.

BURKHARD, P.R.; BURKHARDT, K.; HAENGGELI, C-A.; LANDIS, T. Plant-induced seizures: reappearance of an old problem. *J Neurol* 246: 667-670, 1999.

BURTT, B. L. AND SMITH, R. M. Tentative keys to the subfamilies, tribes and genera of the Zingiberales. *Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh*, v. 31, p. 171–176, 1972.

BUSNELLO E. *Eletroconvulsoterapia*. In: Taborda, J.G.; Prado-Lima, P.; Busnello, E. *Rotinas em Psiquiatria*. Artes Médicas, Porto Alegre 1995.

CARLINI, E.A. *Screening Farmacológico de plantas brasileiras*. In: *Revista Brasileira de Biologia* v.32 (2), 1972.

CAVALHEIRO, E.A.; LEITE, J.P.; BORTOLOTTI, Z.A.; TURSKI, W.A.; IKONOMIDOU, C.; TURSKI, L. Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia*. v. 32, p. 778-782, 1991.

CAVALHEIRO, E.A. *et al.* Spontaneous recurrent seizures in rats: amino acid and monoamine determination in the hippocampus. *Epilepsia*, v. 35, p. 1-11, 1994.

CERESER KM, FREY BN, BERNARDES FB et al. Glial fibrillary acidic protein expression after electroconvulsive shocks in rat brain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 29, 2006.

CERLETTI, U. L'elettroshock. *Rivista Sperimentale Freniatria* 64: 209-310, 1940.

CHAMBERLIN, E. & TSAI, G.E. A glutamatergic model of ECT-induced memory dysfunction. *Harvard Rev. Psychiatry* 5;307-317, 1998.

CHOI, D.W. Glutamate Neurotoxicity and Diseases of the Nervous System. *Neuron*, v. 1, p. 623-634, 1988.

CHOI, D.W. Glutamate Receptors and the Induction of Excitotoxic Neuronal Death. *Progress in Brain Research*; v. 100, p.47-51, 1994.

CLIFFORD, D.B.; OLNEY, J.W.; MANIOTIS, A.; COLLINS, R.C.; ZORUMSKI, C.F. The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures. *Neuroscience*. v. 23, p. 953-968, 1987.

CORREA, M.P. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v.1, p.483-486, 1926.

CORRÊA, P. Dicionário das plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e IBDF, 1975. v.6, 345p.

COSTA, C.J.; PALMINI, A.; YACUBIAM, E. M. T.;CAVALHERO, E. A. Fundamentos neurobiológicos das epilepsias: aspectos clínicos e cirúrgicos. São Paulo, Lemos, V.1, p.703, 1998.

COSTA-LOTUFO, L.V. *et al.* Attenuating effects of melatonin on pilocarpine-induced seizures in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, v. 131, p. 521-529, 2002.

COSTA, M.C.C.D. *et al.* Avaliação da atividade citotóxica de *Acmella oleracea* (L) R.K. Jansen, *Alpinia speciosa* K. Shum e *Chenopodium ambrosioides* L. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 1., 2007, Petrolina. Anais... Petrolina: Universidade do Vale do São Francisco-UNIVASF, CD ROM, p.18, 2007b.

COSTA, D.A. Estudo pré-clínico dos efeitos bioquímicos e farmacológicos da cianocarbona em camundongos:subsídio para o desenvolvimento de fitomedicamentos.119p. Dissertação de Metrado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, 2012.

COIMBRA, R. & DINIZ, E. Notas de fitoterapia. Rio de Janeiro, Laboratório Silva Araújo, 1943.

CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York. 1981.

CRUZ, G.L. (1965) Livro verde das plantas medicinais e industriais do Brasil 2vs., Belo Horizonte, Veloso.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T. & YEO, P. F. The families of the Monocotyledons - Structure, evolution, and taxonomy. Springer-Verlag, Berlim, 1985.

DAL-PIZZOL, F.; KLAMT, F.; VIANNA, M.R.M. et al. Lipid peroxidation in hippocampus early and late after status epilepticus induced by pilocarpine or kainic acid in Wistar rats. *Neurosci Lett* 291: 179-182, 2000 .

DANBOLT, N.C. Glutamate Uptake. *Progress in Neurobiology*; v. 65, p.1-105, 2001.

De BRUIN, V.M.S, MARINHO, M.M.F., SOUSA, F.C.F., VIANA, G.S.B. Behavioural and neurochemical alterations after Lithium-Pilocarpine administration in young and adult rats: a comparative study. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*, v. 65, n.3, p.547-551, August 1999.

DE LORENZO, R.J.; RAZA, M.; PAL, S.; RAFIQ, A. Long-term alteration of calcium homeostatic mechanisms in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Brain Research*. v. 903, p. 1-12, 2001.

DE SOUSA, D. P. et al. Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents. *Neurosci Lett*, 401: 231-235, 2006.

DE SOUSA, D. P.; QUINTANS, J.L.; ALMEIDA, R.N. Evaluation of the anticonvulsant activity of alfa-Terpineol. *Pharm Biol*, 45: 69-70, 2007.

DEVIENNE, K.F.;RADDI, M.S.G.; POZETTI,G.L. Das plantas medicinais aos fitoterápico. *Rev.Bras, Pl.Med., Botucatu*, V6, N.3,p11-14, 2004.

DI STASI, L.C.; HIMURA-LIMA, C.A. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2.ed. ver.ampl.São Paulo: Ed. UNESP,2002.

DORTA EJ. Introdução. In: Escala Rural: especial de plantas medicinais. 1(4):1-62. São Paulo: Escala Ltda; 1998.

DREIFUSS, F.E. O que é a epilepsia. In REISNER, Helen (org.). Crianças com epilepsia. Campinas: Papyrus Editora,1996.

DUNIAU, M. C. M. Plantas Mediciniais: da magia à ciência. Rio de Janeiro: Ed.Brasport; 2003.

ENGEL, J.JR. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*, v. 42, n. 6, p. 796-800, 2001.

ENGEL, J.; PEDLEY, T. A. Epilepsy: a comprehensive textbook, Lippincott-Raven, Philadelphia. pp.2013-2019,1997.

ERAKOVIC, V.; ZUPAN, G.; VARLJEN, J.; LAGINJA, J.; SIMONIC, A. – Lithium plus Pilocarpine Induced Status Epilepticus – Biochemical Changes. *Neurosc Res* 36: 157-66, 2000.

ERAKOVIC ,V., ZUPAN, G.; VARLJEN, J. et al. Altered activities of rat brain metabolic encimes in eletroconvulsive shock-induced seizures. *Internacional League Against Epilepsy* 42:181-189, 2001.

- ERANTI SV & MCLOUGHLIN DM. Electroconvulsive therapy – state of the art. *Br J Psychiatry* 182: 8-9, 2003.
- EYAL, S.; YAGEN, B.; SOBOL, E.; ALTSCHULER, Y.; SHMUEL, M.; BIALER, M. The activity antiepileptic drugs a hitone deacetylase inhibitors. *Epilepsia*, v.45, n.7, p.737-744, July 2004.
- EZAAWELY, A. A.; XUAN, T. D.; TAWATA, S. Essential oils, kava pyrones and phenolics compounds from leaves and rhizomes of *Alpinia zerumbet*(Pers.) B.L. Burt & R.M. Sm and their antioxidant activity. *Food Chem.*, v. 103, p. 486-496, 2007a.
- EZAAWELY, A. A.; XUAN, T. D.; TAWATA, S. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet*. *Food Chem.*, v.104, p. 1648-1653, 2007b.
- FALCONER, M. A. Genetic and related aetiological factors in temporal lobe epilepsy. A review. *Epilepsia*, v. 12, p. 13-31, 1971.
- FANG, Y. Z.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, v. 18, p. 872-879, 2002.
- FERRAGUTI, F.; SHIGEMOTO, R. Metabotropic Glutamate Receptors. *Cell Tissue Research*, v. 326, p. 483-504, 2006.
- FITOTERAPIA – Vademecum de prescripción – Plantas medicinales.3ª ed.,Barcelona, Espanha, Colégio Oficial de Farmaceuticos de Biskaia y Asociación Española demédicos nauristas, Ed . Masson, 1998.
- FREDSTROM, S. Nitric oxide, oxidative stress, and dietary antioxidants. *Nutrition*, v. 18, p. 537-539, 2002.
- FREITAS, R.M.; VIANA, G.S.B.; FONTELES, M.M.F. Striatal monoamines levels during status epilepticus. *Rev. Psiq. Clín.* 30 (3):76-79, 2003.
- FREITAS, R.M.; SOUZA, F.C.F.; VASCONCELOS, S.M.M.; VIANA G.S.B.; FONTELES M.M.F. Oxidative stress in the hippocampus after status epilepticus in rats. *The FEBS Journal*, v. 272, p. 1307-1312, 2005.
- FREITAS, R.M. The evaluation of effects of lipoic acid on the lipid peroxidation, nitrite formation and antioxidant enzymes in the hippocampus of rats after pilocarpine-induced seizures. *Neuroscience Letters*, v.45), p.140-144, 2009.
- FREITAS, R.M. Vigabatrina aumenta atividade da superóxido dismutase no corpo estriado de ratos após crises convulsivas induzidas pela pilocarpina. *Revista de Psiquiatria Clínica*, v. 37, n. 1, p. 36-40, 2010.
- FREUND, T.F.; BUZSÁKI, G. Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus*, v. 6, p.347-470, 1996.

FRIEDEBERG, J. Shock treatment, brain damage, and memory loss: a neurological perspective. *Am J Psychiatry* 134: 1010-1014, 1977.

FRITSCHY, J.M.; KIENER, T.; BOUILLERET, V.; LOUP, F. – GABAergic Neurons and GABA<sub>A</sub>-receptors in Temporal Lobe Epilepsy. *Neurochem Int* 34: 435-45, 1999.

FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. *Farmacologia clínica*, cap 43, p. 536-553, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

FUENTES, VICTOR & GRANDA, Manuel *Conozca las plantas medicinales*. La Habana, Editorial Científico-Técnica, 1997.

FUJIKAWA, D.G.; DANIELS, A.H.; KIM, J.S. – The Competitive NMDA Receptor Antagonist CGP 40116 Protects Against Status Epilepticus-Induced Neuronal Damage. *Epilepsy Res* 17: 207-19, 1994.

FUJIKAWA, D.G. – Neuroprotective Effect of Ketamine Administered After Status Epilepticus Onset. *Epilepsia* 36: 186-95, 1995.

FUKUDA, T.; HEIZMANN, C.W.; KOSAKA, T. Quantitative analysis of GAD65 and GAD67 immunoreactivities in somata of GABAergic neurons in the mouse hippocampus proper (CA1 and CA3 regions), with special reference to parvalbumin-containing neurons *Brain Research*, v. 764, p. 237-243, 1997.

FURTADO, L.G. & SOUZA, R.C. & BERG, M. E. VAN DEN. Notas sobre uso terapêutico de plantas pela população cabocla de Marapanim, Pará In: *Boletim do Museu Emílio Goeldi*. Nova série, *Antropologia* (70), 31 de outubro, 1978.

GARDINER, R. M. Genetic basis of the human epilepsies. *Epilepsy Research*, v.36, p.91-95,1999.

GILGUM-SHERKI, Y.; ROSENBAUM, Z.; MELAMED, E. et al. Antioxidant therapy in acute central nervous injury: current state. *Pharmacology Review*, 54:271-284, 2002.

GILLIAM, F.G.; SANTOS, J.; VAHLE, V.; CARTER, J.; BROWN, K.; HECIMOVIC, H. Depression in epilepsy: ignoring clinical expression of neuronal network of dysfunction. *Epilepsia*, v.45, n.S2, p.26-30, June 2004.

GLEITER, C.H. & NUTT, D.J. Chronic eletroconvulsive shock and neurotransmitter receptors: an update. *Life Science* 44:985-1006, 1989.

GOFF J. *As doenças têm história*. 2a ed. Lisboa: Terramar; 1997.

GOODMAN & GILMAN. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

GOMES, M. M. Frequência populacional de epilepsia. *Revista Brasileira de Neurologia*, v. 33, n. 1, p. 3-7, 1997.

GREEN AR, NUTT DJ. Psychopharmacology of repeated seizures: Possible relevance to the mechanisms of action of ECT. In Iversen LL, Iverssen SH, Snyder SH (Eds.) Handbook of Psychopharmacology. London: Plenum Press, 375-419, 1987.

GUASTELLA J, BRECHA N, WEIGMANN C, LESTER A, DAVIDSON N. Cloning, expression and localization of a rat brain high-affinity glycine transporter. Proc Natl Acad Sci USA, v.89, p.7189-7193, 1992.

HALBERSTEIN R.A . Medicinal Plants: Historical and Cross-Cultural Usage Patterns. AEP, V.15, vol 686-699, 2005.

HALLIWELL, B. Free radicals and other reactive species in disease. In: Encyclopedia of Life sciences. Nature Publishing Group, p. 1-7. 2001.

HELLSTEN J, WEST MJ, ARVIDSSON A, EKSTRAND J, JANSSON L, WENNSTROM M, TINGSTROM A. Electroconvulsive seizures induce angiogenesis in adult rat hippocampus. Biol Psychiatry 1;58(11):871-8, 2005.

HESDORFFER, D. C.; LOGROSCINO, G.; CASCINO, G.; ANNEGERS, J. F.; HAUSER, W. A. Risk of unprovoked seizure after acute symptomatic seizure: effect of status epilepticus. Ann. Neurol., v. 44, p. 908-912, 1998.

HSU, S. Y. Antiulcer effects of the constituents of *Alpinia spenciosa* rhizome: effects of dihydro-5,6-dehydrokawain and 5,6-dehydrokawain on gastric secreti. Kuoli Chungkuo I Yao Yen Chui Pao Kao, p. 131-145, 1982.

HARTMAN, A.L ET AL: "Efficacy of the Ketogenic Diet in the 6-Hz Seizure Test" Epilepsia 49(2): 334-339, 2008.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. Princípios ativos de plantas superiores. São Carlos: EDUFSCAR., p.152, 2003.

HRUSKA, R.E., LUDMER, L.M., PERT, A., PETER, J.R., BUNNEY, W.E. Effects of lithium on [3H] quinuclidinyl benzilate binding to rat brain muscarinic cholinergic receptors. J Neurosci Res, v. 11, p. 171-180, 1984.

HULME, E. C. Muscarinic acetylcholine receptors: typical G-coupled receptors. Symp Soc Exp Biol., v. 44, p. 39-54, 1990.

IMPERATO, A., DAZZI, L., CARTA, G., COLOMBO, G., BIGGION, G. Rapid increase in basal acetylcholine release in the hippocampus of freely moving rats induced by withdrawal from long-term ethanol intoxication. Brain Res., v.784, p. 347-350, 1998.

ITOKAWA, H.; MORITA, H., WATANABLE, K.; MIHASHI,S.; IITOKA,Y. Isolation of agarofuran-type sesquiterpenes from *Alpinia japonica* (Thunb) Miq. Chem.Pharm. Bull. v. 28, n.2,p.681-682, 1980a.

JANZ D. Etiology of conclusive status epilepticus. Adv Neurol., v.34, p. 47-49, 1983.

JAREMA M. Herbal drug treatment. Neuro Endocrinol Lett. Nov 23;2 (Suppl1), 2008.

JOHNSON JW., ASCHER P. Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature*, v. 325, p. 529-531, 1987.

JOLY, A. B. 1993. Botânica - Introdução à taxonomia vegetal. Companhia Editora Nacional, São Paulo.

KEEF, K.D. & ROSS, G. Rhythmic coronary arterial contractions: changes with time and membrane potential. *Am. J. Physiol.*, v. 250, p.524-529,1986.

KLAMT, F.; DAL-PIZZOL, F.; ROCHA, A.B. et al. Imbalance of antioxidant defense in mice lacking cellular prion protein. *Free Radic Biol Med* 30: 1137-1144, 2001.

KRESS, W. J.; PRINCE, L. M. & WILLIAMS, K. J. The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data. *American Journal of Botany* v. 89, p. 1682-1696, 2002.

KUMAR V. Potential medicinal plants for CNS disorders: an overview. *Phytother Res.* Dec;20:1023-35, 2006.

LARANJA, S.M.R.; BERGAMASCHI, C.M.; SCHOR, N. Avaliação de três plantas com potencial diurético. *Revista Associação Médica Brasileira*, v.38, n.1, p.13-6, 1992.

LARANJA, S.M.R.; BERGAMASCHI, C.M.; SCHOR, N. Evaluation of acute administration of natural products with potential diuretic effects, in humans. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.86, p.237-40, 1991.

LARSEN, K., J. M. LOCK, H. MAAS, AND P. J. M. MAAS. 1998. Zingiberaceae. In K. Kubitzki [ed.], *The families and genera of vascular plants*, vol. IV, 474–495. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

LEE, C. PARK, K.; LEE, J.M.; CHUN, K.S.; KANG, J.Y.; LEE, S.S; SURH, Y.J. Suppression of mouse skin tumor promotion and induction of apoptosis in HL-60 cells by *Alpinia oxiphylla* Miquel (Zingiberaceae). *Carcinogenesis*. V.19, n.8, p.1377-1381, 1998.

LEITE JP, BORTOLOTTO ZA, CAVALHEIRO EA. Spontaneous recurrent seizures in rats: An experimental model of partial epilepsy. *Neurosci. Biobehav. Rev.* v. 14, p. 511–517, 1990.

LEITE, M.P.; FASSIN JR., J.; BAZILONI, E.M.F; ALMEIDA, R.N.; MATTEI, R.; LEITE, J.R. Behavioral effects of essential oil of *Citrus aurantium* L. inhalation in rats. *Rev Bras Farmacogn* 18 (Supl.): 661-666, 2008.

LIAO, C. F.; THEMEN, A. P. N.; JOHO, R.; BARBERIS, C.; BIRNBAUMER, M.; BIRNBAUMER, L. Molecular cloning and expression of a fifth muscarinic acetylcholine receptor. *J. Biol. Chem.* v. 264, p. 7328-7337, 1989.

LIMA, J.M.L. Epilepsia – a abordagem clínica. *Ver. Port. Clin. Geral*, 21:291-8, 2005.

LING, E. A.; TANG, F. R.; LEE, W. L.; YANG, J.; SIM, M. K. Expression of metabotropic glutamate receptor 1 $\alpha$  in the hippocampus of rat pilocarpine model of status epilepticus. *Epilepsy Research*, v. 46, p. 179-189, 2001.

LOPEZ, M. & LLINAS, H. & SUARES, G.E. *Medicina tradicional dominicana (Una contribución a su estudio)* Universidad Nacional Pedro Henriquez Ureña, Santo Domingo, D.N., Rep. Dominicana, Ed. Técnico Profesional, 1992.

LORENZI, H. & SOUZA, H. M. *Plantas ornamentais no Brasil - arbustivas, herbáceas e trepadeiras*. Editora Plantarum, São Paulo, 1995.

LOSCHER, W., LEPPIK, J.E. Critical re-evaluation of previous preclinical strategies for the discovery and the development of new antiepileptic drugs. *Epilepsy Research* 50, 17-43, 2002.

LÖSCHER, W. New visions in the pharmacology of anticonvulsion. *European Journal of Pharmacology*.; v.342, p.1.13, 1998.

LOSCHER, W.; SCHMIDT, D. Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Research*, v. 2, p. 145-181, 1988.

LÖSCHER, W, SCHMIDT D. New horizons in the development of antiepileptic drugs: Innovative strategies. *Epilepsy Research*. v. 69,183-272, 2006.

LUDDENS, H.; WISDEN, W. Function and pharmacology of multiple GABA-A receptor subunits. *Trends Pharmacol. Sci.* v. 12, p. 49-51, 1991.

LYONS, A. S.; PETRUCCELLI, R.J. *Medicine: an illustrated history*. New York: Abradale Press, 1987.

KIMURA, Y.; TAKIDO, M.; NAKANO, K.; TAKISHITA, M. *J. Pharm. Soc. Japan.*, v.86, p.1184, 1966.

MACHADO, L. D. 1996. *Alpínia*. *Revista Natureza* 101(5): 3942.

MACKEY, C., The anticonvulsants market. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 9, 265-266, 2010.

MARINHO, M.M.F.; SOUSA, F.C.F.; BRUIN, V.M.S.; AGUIAR, L.M.V.; PINHO, R.S.N.; VIANA, G.S.B. Inhibitory action of a calcium channel blocker (nimodipine) on seizures and brain damage induced by pilocarpine and lithiumpilocarpine in rats. *Neuroscience Letters*. v. 235, p. 13-16, 1997.

MARINHO, M.M.F. *et al.* Effects of lithium, alone or associated with pilocarpine, on muscarinic and dopaminergic receptors and on phosphoinositide metabolism in rat hippocampus and striatum. *Neurochemistry International*, v. 33, p. 299-306, 1998.

MARTINS, L.G.S.; SENNA-VALLE, L.; PEREIRA, N.A. Princípios ativos e atividades farmacológicas de 8 plantas popularmente conhecidas por nome de medicamentos comerciais. *Rev. Bras. Pl. Med.*, v.7, n.2, p.73-76, 2005.

MASUDA, T.; MIZUGUCHI, S.; TANAKA, T.; IRITANI, K.; TAKEDA, Y. Isolation and structure determination of new antioxidative ferulic acid glucoside esters from the rhizome of *Alpinia speciosa*, a Zingiberaceae plant used in Okinawan food culture. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 1479-1484, (2000).

MATOS, F.J.A. & CAVALCANTI, F.S. & QUEIROZ, M.F.F.B. Plantas da medicina popular do Ceará selecionadas pela maior frequência de seu uso. In: VIII Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil. Manaus AM, INPA, Universidade do Amazonas, 1984.

MCNAMARA, J. O. Cellular and molecular basis of epilepsy. *The Journal of Neuroscience*, v.14, n.6, p.3413 - 3425, 1994

MEDUNA L. Autobiography, Part I. Convulsive Therapy 1: 43-57, 1985.

MELDRUM, B. S. Glutamate as a neurotransmitter in the brain. Review of Physiology and Pathology. *The Journal of Nutrition*, v. 130, p. 1007-1015, 2000.

MENDONÇA, V.L.M. et al. Pharmacological and toxicological evaluation of *Alpinia speciosa*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.86, p.93-7, 1991.

MILITÃO, G.C.G.; FERREIRA, P.M.P.; FREITAS, R.M. Effects of lipoic acid on oxidative stress in rat striatum after pilocarpine-induced seizures. *Neurochemistry International*, v. 56, p. 16-20, 2010.

MILLAN, M.H.; CHAPMAN, A.G.; MELDRUM, B.S. Extracellular amino acid levels in hippocampus during pilocarpine-induced seizures. *Epilepsy Res.*, v.14, p. 139-148, 1993.

MIRANDA, PEDRO. Segredos e Virtudes das Plantas Mediciniais. Internet. 1998.

MOREIRA, S. R. G.; Epilepsia: concepção histórica, aspectos conceituais, diagnóstico tratamento. *Mental*, ano II, n.3, Barbacena, p.107-122, Nov.2004.

MURAKAMI S, MATSUURA M, SATOU T, HAYASHI S, KOIKE K. Effects of the essential oil from leaves of *Alpinia zerumbet* on behavioral alterations in mice. *Nat Prod Commun.* v. 4, p. 129-32, 2009.

NATHANSON, N. M.; McKINNON, L. A.; KALAYDJIAN, A. E.; HAMILTON, S. E.; ROSOFF, M. L.; NADLER, L. S. Molecular analysis of the regulation of muscarinic receptor expression and function. *Life Sciences*, v. 64, p. 375-379, 1999.

NELSON, D.L.; COX, M.M. Principles of Biochemistry, 3rd ed, Worth Publishers, 1013 p, 2000.

NICHOLSON, S. S. Toxicologia. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. Tratado de Medicina Interna Veterinária – Doenças do Cão e do Gato. V 1. E. 5. p 375- 381. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 2004.

OBAY, B.D.; TAS\_DEMIR, E.; TUMER, C.; BILGIN, H.M.; ATMACA, M. Dose dependent effects of ghrelin on pentylentetrazole-induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides* 29, 448–455, 2008.

OLIVEIRA, T.M. Ensaio pré-clínico de um produto natural para avaliação de seu possível efeito anticonvulsivante. 2012.130f. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, 2012.

OLNEY, J. W.; COLLINS, R. C.; SLOVITER, R. S. Excitotoxic mechanisms of epileptic brain damage. *Adv. Neurol.* v. 44, p. 857-877, 1986.

OLNEY, J. W.; DE-CUBAREFF, T.; LABRUYERE, J. Seizure-related brain damage induced by cholinergic agents. *Nature*, v. 301, p. 520-522, 1983.

OTTERSEN, O.P.; STORM-MATHISEN, J. Glutamate. In: Björklund A, Hökfelt T, eds. *Handbook of chemical neuroanatomy*. Vol 18. Amsterdam: Elsevier; 2000. p. 311–6, 2001.

PATEL, M. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: Cause and consequence of epileptic seizures. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 37, p. 1951-1962, 2004.

PATHAK S, WANJARI M.M, JAIN S.K, TRIPATHI M. Evaluation of antiseizure activity of essential oil from roots of *Angelica archangelica* Linn. in mice. *Indian J Pharm Sci*, 72:371-5, 2010.

PEPEU, G. Brain acetylcholine: an inventory of our knowledge on the 50th anniversary of its discovery. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 4, p. 416- 418, 1983.

PERALTA, E. G.; WINSLOW, J. W.; PETERSON, G. L.; SMITH, D. H.; ASHKENAZI, A.; Primary structure and biochemical properties of an M2 muscarinic receptor. *Science*, v.236, 1987:

PERAZZO, F.F.; LIMA, L.M.; MAISTRO, E.L.; CARVALHO, J.E.; REHDER, V.L.G.; CARVALHO, J.C.T. Effect of *Artemisia annua* L. leaves essential oil and ethanol extract on behavioral assays. *Rev Bras Farmacogn* 18: 686-689, 2008.

PERSINGER, M.A.; BUREAU, Y.R.J.; KOSTAKOS, M.; PEREDERY; FALTER, H. – Behaviours of Rats with Insidious Multifocal Brain Damage Induced by Seizures Following Single Peripheral Injections of Lithium and Pilocarpine. *Physiol Behav* 53: 849-66, 1993.

PISANI, A.; BONSI, P.; MARTELLA, G.; DE PERSIS. C.; COSTA, C.; PISANI, F.; BERNARDI, G.; CALABRESI, P. Intracellular calcium increase epileptiform activity: modulation by levetiracetam and lamotrigine. *Epilepsia*, v. 45, n. 7, p. 719-725, July 2004.

PETERSEN, O. G. 1889. Musaceae, Zingiberaceae, Cannaceae, Marantaceae In A. Engler and K. Prantl [eds.], *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, 1<sup>st</sup> ed., vol. 2 (6), 1–43. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig, Germany.

PINHEIRO, C.U.B. Extrativismo, cultivo e privatização do jaborandi (*pilocarpus microphyllus stapf* ex. holm. RUTACEAE) no Maranhão Brasil. Acta Botânica Basílica, 16 (2): 141-150, 2002.

PLOSKI, J.E. et al: "Electroconvulsive Seizure-Induced Gene Expression Profile of the Hippocampus Dentate Gyrus Granule Cell Layer" J.Neurochemistry 99 (4): 1122-1132, 2006.

POSSE, J.C. Plantas medicinais utilizadas pelos usuários do SUS nos bairros de Paquetá e Santa Teresa: uma abordagem etnobotânica/ Juliana Costa Posse.- Rio de Janeiro: UFRJ/Faculdade de Farmácia, 2007.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Modelos animais para avaliação de drogas anticonvulsivantes: uma revisão. Rev. Bras. Farm., 88(4): 163-166, 2007.

RAMI-GONZALEZ, L.; BERNARDO, M.; BOGET, T. et al. Subtypes of memory dysfunction associated with ECT: characteristics and neurobiological bases. J ECT 17:129-135, 2001.

RANG, H.P.; DALE, M.M. Farmacologia. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

ROBERTS, E. Roberts E, Chase T.N. and Tower D.B., Introduction. In GABA in Nervous System Function. Raven Press, New York, p. 1-6, 1976.

RODRIGUES, A.D. et al. Neuroprotective and anticonvulsant effects of organic and conventional purple grape juices on seizures in Wistar rats induced by pentylenetetrazole. Neurochemistry International 60: 799-805, 2012.

ROUX MJ, SUPPLISSON S. Neuronal and glial glycine transporters have different stoichiometries. *Neuron*, v.25, p.373-383, 2000.

SACKEIM HA. Central issues regarding the mechanism of action of electroconvulsive therapy: Directions for future research. Psychopharm Bull 30: 281-308, 1994.

SADOCK, B.J.; SADOCK, V.A.; editors. Comprehensive textbook of psychiatry. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.

SAGAR, H. J.; OXBURY, J. M. Hippocampal neuron loss in temporal lobe epilepsy:

SANTANA, C.F. & PINTO, K.V. et al. Estudos farmacológicos de antiinflamatórios de alguns vegetais. Revista do Instituto de Antibióticos 6(12), Recife, 1966.

SANTANA, A.P.M. Avaliação da segurança e genotoxicidade do chá de *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt & Smith em voluntários saudáveis. 156f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Ceará., 2009.

SATOU T, MURAKAMI S, MATSUURA M, HAYASHI S, KOIKE K. Anxiolytic effect and tissue distribution of inhaled *Alpinia zerumbet* essential oil in mice. Nat Prod Commun. V. 5, p. 143-6, 2010.

SAYYAH, M; VALIZADEH, J; KAMALINEJAD, M. Anticonvulsant Activity of the leaf essential oil of *laurus nobilis* against Pentylenetetrazole- and maximal electroshock-induced Seizures. *Phytomedicine*, 9(3) : 212-6, 2002.

SCOTT, R.A; LHATOO, S.D; SANDER, J.W. The treatment of epilepsy in developing countries: where do we go from here? *Bull World Health Organ*, v. 79, n. 4, p. 344-51, 2001.

SCHUMANN, K. 1904. Zingiberaceae. In A. Engler [ed.], *Das Pflanzenreich* 4/46, 1–458. Leipzig, Germany.

SIEGEL, R; AGRANOFF, B.; ALBERS, R.W.; MOLINOFF, P. *Basic Neurochemistry – Molecular, Cellular and Medical Aspects*, 4<sup>a</sup> Ed., Raven Press, E.U.A, 1989.

SILVA, M.I.G., SILVA, M.A., DE AQUINO NETO, M.R., MOURA, B.A., DE SOUSA, H.L., DE LAVOR, E.P., DE VASCONCELOS, P.F., MACEDO, D.S., DE SOUSA, D.P., VASCONCELOS, S.M., DE SOUSA, F.C. Effects of isopulegol on pentylenetetrazol-induced convulsions in mice. Possible involvement of GABAergic system and antioxidant activity. *Fitoterapia* 80, 506–513, 2009..

SILVILOTTI, L.; NISTRI, A. GABA receptor mechanism in the central nervous system. *Prog. Neurobiol.*, v. 36, p. 35-92, 1991.

SIMONIC, A.; LAGINJA, J.; VARLJEN, J.; ZUPAN, G.; ERAKOVIC, V. Lithium plus pilocarpine induced status epilepticus – biochemical changes. *Neuroscience Research*. v. 36, p. 157-166, 2000.

SMITH, R. M. *Alpinia* (Zingiberaceae): a proposed new infrageneric classification. *Edinburgh Journal of Botany* v. 47, p. 1–75, 1990.

SMITH, M; WILCOX, K.S. ;WHITE ,H.S. Discovery of antiepileptic drugs. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental, NeuroTherapeutics*, v.4, p.12-17, 2007.

SORACI, A. L.; TAPIA, M. O. *Intoxicaciones en carnívoros domésticos*. Santa Fé, Argentina: Fondo Editor Dr. Edgardo Segismundo Allignani. 2001.

SOUSA, D.P.; NÓBREGA, F.F.F.; CLAUDINO, F.S.; ALMEIDA, R.N.; LEITE, J.R.; MATTEI, R. Pharmacological effects of the monoterpene ,-epoxy-carvone in mice. *Rev Bras Farmacogn* 17: 170-175, 2007.

SOUZA, P. D.; Nóbrega F.F.F.; ALMEIDA, R.N. Influence of the chirality of (R)-(-) and (S)-(+)-carvone in the central nervous system: a comparative study. *Chirality* 19: 264-268, 2007.

SOUSA, F.C.F, MELO, C.T.V.; CITÓ, M.C.O.; FÉLIX, F.H.C.; VASCONCELOS, S.M.M.; FONTELES, M.M.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; VIANA, G.S.B. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. *Rev Bras Farmacogn* 18: 642-654, 2008

SPINOSA, H.S.; GORNIAC S. L.; PALERMO-NETO, J. Toxicologia Aplicada à Medicina Veterinária. Barueri, SP: Manole, 2008.

SQUIRE, L.R. & SLATER, P.C. Electroconvulsivetherapy and complaints of memory dysfunction: a prospective three year follow-up study. *British Journal Psychiatry* 142: 1-8, 1983.

STHELE, H.; STHELE, M. Flore agronomique das Antilles Française: Le Chevalier. Basse- terre. V.IX, p. 124-125, v.X, p. 50-51, 1958.

SWINYARD, E.A.; BROWN, W.C.& GOODMAN, L.S., J. *Pharmacol. Exp.Ther.*, 106:319, 1952.

TAKAHASHI K. et al: "Expression of Ndr2 in the Rat Frontal Cortex After Antidepressant and Electroconvulsive Treatment" *Int. J. Neuropsychopharm.* V.8, p.381-389, 2005.

TAPIERO, H. et al. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* v.56, n.5, p.215-222, 2002.

TAVARES, W. Introdução aos estudos dos antimicrobianos. 2 ed. São Paulo: Atheneu, p. 3-13, 1996.

THOMPSON, R.C. Reports of The Magicians And Astrologers of Nineveh and Babylon in the British Museum . Pr Ams Inc, 1970.

THOMPSON, J.W.; WEINER, R.D.; MYERS, C.P. Use of ECT in the United States in 1975, 1980 and 1986. *Am J Psychiatry* 151:1657-61, 1994.

THUILLIER, J. Ten years that changed the face of mental illness. Martin Dunitz Ltd, United Kingdom, 1999.

TILLEY, Larry Patrick; Consulta Veterinária em 5 minutos espécies Canina e Felina. 2ª ed. Barueri, SP: Manole; 2003.

TOMÉ, A.R.; FENG D.; FREITAS, R.M. The effects of alpha-tocopherol on hippocampal oxidativestress prior to in pilocarpine-induced seizures, *Neurochemical Research*, v. 35, p. 580-587, 2010.

TOMLINSON, P. B. 1969. Commelinales - Zingiberales. Pp. 341359. In: C. R. Metcalfe. *Anatomy of the monocotyledons*. Clarendon Press, Oxford.

TURSKI, L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: a behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behavior Brain Research.* v. 9, p. 315-335, 1983

TURSKI, W.A.; CAVALHEIRO, E.A.; BORTOLOTTTO, Z.A.; MELLO, L.M.; SCHWARZ,M.; TURSKI, L. Seizures produced by pilocarpine in mice: a behavioral, electroencephalographic and morphological analysis. *Brain Res* 321:237-253, 1984.

TURSKI, L, IKONOMIDOU, C, TURSKI, WA, BORTOLOTTA, ZA & Cavalheiro, EA .Review: cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizures induced by pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy, *Synapse*, v. 3, p. 154-71, 1989.

TZSCHENTKE, T.M.. Glutamatergic mechanisms in different disease states: overview and therapeutical implications – an introduction. *Amino Acids*, v. 23,p. 147–152, 2002.

UMEZU, T., ITO, H., NAGANO, K., YAMAKOSHI, M., OOUCHI, H., SAKANIWA, M., MORITA, M. Anticonflict effects of rose oil and identification of its active constituents. *Life Sci* 72: 91-102, 2002.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 39, p. 44-84, 2007.

VAN DEN EYNDEN, J.; SAHEBALI, S.; HORWOOD, N.; CARMANS, S. ; BRONE, B. ; HELLINGS, N.; STEELS, P.; HARVEY, R .J; RIGO, J.M .Glycine and glycine receptor signaling in non-neuronal cells. *Front Mol Neurosci*, v. 2, p.9, 2009

VANDERLINDE, F. A. & CADEN SOUCCAR Et Al. Atividade farmacológica do extrato de *Alpinia speciosa* Schum. In: Anais do IX Simpósio de plantas medicinais do Brasil, 1 a 3 de setembro, Rio de Janeiro % u2013 RJ, 1986.

VIANA, G. S. B. et al. Anticonvulsant activity of essential oils and active principles from chemotypes of *Lippia alba* (MILL.) NE BROWN. *Biol Pharmac Bull*, 23: 1314 - 1317, 2000.

VICTÓRIO CP, ALVIANO DS, ALVIANO CS, LAGE CLS. Chemical composition of the fractions of leaf oil of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burt & R.M. Sm. And antimicrobial activity. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 19, p. 697-701, 2009.

VIEIRA, I. F. R; LEAL, A. S.; KRAMBROCK, K. et al. Identificação de plantas medicinais irradiadas através da ressonância paramagnética eletrônica. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 10, n. 1, p. 63-69, 2007.

XAVIER, S.M.; BARBOSA, C.O.; BARROS, D.O.; SILVA, R. F.; OLIVEIRA, A.A.; FREITAS, R.M. Vitamin C antioxidante effects in hippocampus of adult Wistar rats after seizures and status epilepticus induced by pilocarpine. *Neuroscience Letters*, v. 8, p. 76-79, 2007.

WATTIEZ, N.; STERNON, F. *Elements de chimie vegetale*. 2.ed. Paris: Masson et Cie, 1942. 844p.

WENNSTROM M, HELLSTEN J, EKSTRAND J, LINDGREN H, TINGSTROM, A. Corticosteroneinduced inhibition of gliogenesis in rat hippocampus is counteracted by electroconvulsive seizures. *Biol Psychiatry* 15;59(2):178-86, 2006.

WESS, J.; BONNER, T. I.; DÖRJE, F.; BRANN, M. R. Delineation of muscarinic receptor domains conferring selectivity of coupling to guanine nucleotide-binding proteins and second messengers. *Mol. Pharmacol.* v. 38, p. 517-523, 1990..

WHITE, H. S. Clinical significance of animal seizure models and mechanism of action studies of potential antiepileptic drugs. *Epilepsia*, v. 38, p. 9-17, 1997.

WHITE, H.S., SMITH, M.D., WILCOX, K.S. Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Int. Rev. Neurobiol.* 81, 85–110, 2007.

WIJKSTRA, J. & NOLEN, W. Successful maintenance electroconvulsive therapy for more than seven years. *J ECT* 21: 171-173, 2005.

YACUBIAN, E.M. O amplo espectro de um solvente. In: Yacubian EM (ed.). *Tratamento Medicamentoso da Epilepsia*. 2. ed. São Paulo, Lemos Editorial, p.97-113, 2004..

ZILLES, K.; WU, J.; CRUSIO, W.E.; SCHWEGLER, H. Water maze and radial maze learning and the density of binding sites of glutamate, GABA, and serotonin receptors in the hippocampus of inbred mouse strains. *Hippocampus*, v. 10, p. 213-225, 2000.

ZOGHBI, M.G.B. et al. Volatile constituents from leaves and flowers of *Alpinia speciosa* K. Schum. and *A. pupurata* (Viell.) Schum. *Flavour and Fragrance Journal*, v.14, n.6, p.411-4, 1999.