



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**FACULDADE DE BIOMEDICINA**

**DAYSE MINELLE PAIXÃO DE OLIVEIRA**

**ALTERAÇÕES ELETROENCEFALOGRÁFICAS PROVOCADAS PELO  
EXTRATO ETANÓLICO DE FLORES DA *Spilanthes acmella* EM RATOS  
WISTAR.**

**BELÉM, PA**

**2017**

**DAYSE MINELLE PAIXÃO DE OLIVEIRA**

**ALTERAÇÕES ELETROENCEFALOGRÁFICAS PROVOCADAS PELO  
EXTRATO ETANÓLICO DE FLORES DA *Spilanthes acmella* EM RATOS  
WISTAR.**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Faculdade de Biomedicina da Universidade  
Federal do Pará, como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.**

**Orientador: Prof. Dr. MOISES HAMOY**

**BELÉM, PARÁ**

**2017**

Oliveira, Dayse Minelle Paixão

Alterações eletroencefalográficas provocadas pelo extrato etanólico das flores de *Spilanthes acmella* em ratos wistar. / Dayse Minelle Paixão de Oliveira. –Belém, Pará, 2017.

42 f

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Biomedicina)  
Universidade Federal do Pará.

Orientador: Prof. Dr. Moisés Hamoy

*Spilanthes acmella*, Convulsão, Pentilenotetrazol, Extrato etanólico, Eletroencefalograma.

**DAYSE MINELLE PAIXÃO DE OLIVEIRA**

**ALTERAÇÕES ELETROENCEFALOGRÁFICAS PROVOCADAS PELO  
EXTRATO ETANÓLICO DE FLORES DA *Spilanthes acmella* EM RATOS  
WISTAR.**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
à Faculdade de Biomedicina da Universidade  
Federal do Pará, como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Bacharel em  
Biomedicina.**

---

Belém (PA), \_\_\_/ de \_\_\_\_\_ de 2017.

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Dr. Moisés Hamoy – ICB- UFPA (Orientador)

---

Profª. Drª. Vanessa Joia de Mello – ICB – UFPA (Avaliadora)

---

Prof. Msc. Romulo Augusto Feio Farias – ICB – UFPA (Avaliador)

BELÉM - PA

2017

*Dedico este trabalho a minha família, em especial á  
meu filho João Bernard.*

## Agradecimentos

A minha irmã JESSICA DE OLIVEIRA, por todo o apoio durante minha trajetória como estudante, por ter sido meu exemplo de como ser uma boa aluna e por ter sempre me incentivado a crescer e adquirir conhecimento. Sem o seu exemplo, o desejo de entrar em uma universidade jamais teria crescido em meu coração.

Ao meu noivo SANDRO DE ASSIS, por estar ao meu lado em todos os momentos de minha caminhada, por compreender os momentos de ausência e por me apoiar e incentivar, sempre me fazendo acreditar que daria certo.

A minha mãe DALVA DE OLIVEIRA e minha avó FRANCISCA DA PAIXÃO, por terem sido guerreiras durante a minha criação, buscado dar sempre o melhor de si, proporcionando a mim e minha irmã educação de qualidade e nos ensinando valores para a vida.

A meus primos LUCIANA, FABRÍCIO E FÁBIO DE OLIVEIRA, por terem acreditado em mim e me ajudado a manter meus estudos.

A minhas amigas INGRID TORRES e NATÁLIA GONÇALVES pelos anos de amizade incrível, por terem me apoiado e incentivado e sonhado cada detalhe deste sonho comigo.

A meus amigos da faculdade VIVIANNE ARAÚJO, THAYANNE MACEDO, JOÃO MARCOS, RITIANE CAETANO e SUELYN ALVES pela amizade e companheirismo ao longo do curso.

A meu orientador Prof. Dr. MOISES HAMOY pela paciência, compreensão e conhecimento a mim repassado, pelos conselhos e pela experiência única vivida durante o Estágio Supervisionado em Farmacologia, que permitiu que eu me tornasse uma profissional mais completa.

A UFPA e seus funcionários, em especial a equipe de profissionais do Laboratório de Análises Clínicas do ICB, pelo carinho ao qual me receberam durante meu Estágio Supervisionado I, por todo o conhecimento a mim transmitido e pela amizade.

## RESUMO

A epilepsia é um distúrbio neurológico grave, que acomete cerca de 50 milhões de pessoas no mundo. Estima-se que no Brasil, esta patologia atinja de 2% a 4% da população, aproximadamente 3 milhões de pessoas. Apesar de haver tratamento, nem sempre este mostra-se eficaz, o que leva a necessidade de novos estudos e modelos experimentais para um seguro desenvolvimento de novos fármacos. Este trabalho tem como intuito testar a eficácia do modelo de intoxicação provocado pelo extrato etanólico obtido das flores da hortaliça *Spilanthes acmella*, conhecida popularmente como jambu. Neste estudo foram utilizados 30 ratos wistar machos adultos, distribuídos em três grupos experimentais para registro eletroencefalográfico. Primeiro Grupo Tratado: recebeu 1000 mg/kg de EEFSa (Extrato Etanólico das Flores de *Spilanthes acmella*) para caracterização comportamental. O Grupo Controle Positivo: recebeu 70 mg/kg de Pentilenotetrazol. Grupo Controle Negativo: recebeu solução de Tween 20 a 0,05% em solução fisiológica de 0,9%, com volume proporcional ao aplicado nos grupos anteriores. Os dados foram obtidos e registrados por uma ferramenta construída com base na linguagem de programação Python versão 2.7. A análise estatística foi realizada por meio de Teste t não-paramétrico e não pareado. A análise dos dados eletroencefalográficos demonstrou comportamento divergente ao padrão basal, sendo estes compatíveis com os apresentados durante crises convulsivas. Estes resultados demonstram que o extrato da *Spilanthes acmella* apresenta grande potencial para modelo experimental em convulsão.

**Palavras-chave:** *Spilanthes acmella*; Convulsão; Pentilenotetrazol; Extrato etanólico; Eletroencefalograma.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	iii
LISTA DE FIGURAS .....	v
LISTA DE TABELAS .....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Epilepsia.....	3
2.1.1. Crises convulsivas .....	3
2.1.2. Pentilenotetrazol.....	5
2.1.3. Eletroencefalograma.....	6
2.2. A cultura do jambu.....	8
2.3. Família <i>Asteraceae</i> .....	10
2.3.1. <i>Spilanthes acmella</i> .....	11
2.3.2. Metabólitos Secundários .....	13
3. JUSTIFICATIVA.....	15
4. OBJETIVOS .....	16
4.1. Objetivo geral.....	16
4.2. Objetivos específicos.....	16
5. MATERIAIS E MÉTODOS .....	17
5.1. Animais .....	17
5.2. Extrato etanólico das flores de <i>Spilanthes acmella</i> .....	17
5.3. Substâncias químicas.....	17
5.4. Procedimento para a implantação do eletrodo .....	18
5.5. Delineamento Experimental .....	18
5.6. Análise de dados .....	19
5.7. Análise estatística.....	19
6. RESULTADOS.....	20
7. DISCUSSÃO.....	27
8. CONCLUSÃO .....	29
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	30

## LISTA DE FIGURAS

	Pag.
1. <b>Figura:</b> Representação das frequências e amplitudes em diferentes estados na análise eletroencefalográfica_____	19
2. <b>Figura:</b> Distribuição geográfica no Brasil do cultivo do jambú_____	21
3. <b>Figura:</b> Folhas de jambú em feira_____	22
4. <b>Figura:</b> Aspecto das flores e folhas da <i>Spilanthes acmella</i> _____	23
5. <b>Figura:</b> Aspecto detalhado da flor de <i>S. acmella</i> (jambú)_____	24
6. <b>Figura:</b> Representação da estrutura química do espilantol_____	25
7. <b>Figura:</b> Traçado do registro de potencial de campo no estado basal. Demonstrativo do sinal do registro obtidos da região córtex motor primário do rato. (A) representa a ampliação de cinco segundos do traçado basal. (B) histograma demonstra a relação entre amplitude $mV^2/Hz$ e frequência em Hz. (C) espectrograma relaciona a frequência (Hz) pelo tempo em segundos e confirma que a concentração de energia nas frequências mais baixas (1- 4 Hz)_____	32
8. <b>Figura:</b> Traçado do registro de potencial de campo após aplicação EEFSa, demonstra alterações de amplitude e momentos de salva de potenciais. (A) histograma demonstra a distribuição de força nas frequências de 1 a 50 Hz; (B) espectrograma demonstra a distribuição de energia durante a latência e salva de potenciais nas frequências de 1 a 50 Hz_____	34
9. <b>Figura:</b> Traçado do registro de potencial de campo após aplicação de pentilenotetrazol (controle positivo), observar mudança de traçado e salva de potenciais. (A) Histograma demonstra distribuição de força nas frequências entre 1 a 50 Hz, observar o maior distribuição de forças nas frequências 1 e 20 Hz. (B) espectrograma demonstra a distribuição de energia antes e durante a salva de potenciais_____	35
10. <b>Figura:</b> Latência para o aparecimento das alterações no potencial de campo no registro para grupos tratados com pentilenotetrazol e EEFSa_____	36
11. <b>Figura:</b> O gráfico avalia a distribuição de amplitude $mV^2/Hz$ e frequência até 50 Hz, para o grupo controle negativo (basal), em tratamento com o pentilenotetrazol e em tratamento com o EEFSa_____	36
12. <b>Figura:</b> Demonstra as médias de amplitude $mV^2/Hz$ e a diferença de atividade de potencial de campo entre os grupos tratados nas frequências até 50 Hz.* $P < 0,05$ _____	37
13. <b>Figura:</b> Mostra a duração das salvas de potenciais em segundos e relaciona os grupos tratados_____	38

**LISTA DE TABELAS**

	<b>Pag.</b>
<b>Tabela 1:</b> Ritmos em Eletroencefalograma_____	19
<b>Tabela 2:</b> Resumo das ações farmacológicas de <i>Spilanthes acmella</i> _____	26

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**EEFSA** – Extrato etanólico da flor de *Spilanthes acmella*

**EEG** – Eletroencefalograma.

**GABA** – Ácido gama-aminobutírico.

**GABA<sub>a</sub>** – Receptor tipo A do neurotransmissor Ácido gama-aminobutírico.

**Hz** – Hertz.

**I.P.** – Intraperitoneal.

**mV**: Milivoltes

**mg**: Miligrama

**PTZ** – Pentilenotetrazol.

**kg**: Quilograma

**S.C.** – Subcutânea

**S.N.C.** – Sistema Nervoso Central

## 1.INTRODUÇÃO

A epilepsia é uma doença comum na população, mas com incidência bastante variável nos diferentes países. Considerada a patologia neurológica grave mais frequente, esta patologia acomete cerca de 50 milhões de pessoas pelo mundo, e 40 milhões destas vivem em países em desenvolvimento, atingindo pessoas de todas as raças, sexo, e condições socioeconômicas (NETO; MARCHETTI, 2005). Assim, existem incidências tão baixas como na Eslovênia que possui 24 casos para cada 100.000 habitantes e casos de alta incidência como no Equador que possui 190 casos pra cada 100.00 habitantes. No Brasil é relatada a prevalência de 165 casos para cada 100.000 habitantes (COSTA et al., 1998). Na maioria dos estudos internacionais, as taxas de prevalência de epilepsia ativa na população geral ficam entre 0,4% e 1% (CORDAS & MORENO, 2001).

Ferreira & Silva (2007) demonstraram que a epilepsia causa óbito mais frequentemente em grupos de pessoas com idade entre 20 a 39 anos (40,53 %), e a mortalidade mais elevada é no sexo masculino, tal achado deve-se ao fato da epilepsia ser mais prevalente neste gênero.

O advento do eletroencefalograma na década de 1930 permitiu o registro da atividade elétrica a partir do couro cabeludo de seres humanos com epilepsia e finalmente foi demonstrado que as epilepsias são da excitabilidade neural (ANDRESEN et al., 2001). Desde então, o Eletroencefalograma tem se tornado exame indispensável no auxílio para o diagnóstico correto da epilepsia.

Com o intuito de desenvolver modelos experimentais que possibilitassem o maior entendimento acerca do fenômeno neurológico denominado de epilepsia, o modelo das quimioconvulsões foi criado. Dentre os modelos mais utilizados, destaca-se o das convulsões induzidas pelo Pentilenotetrazol (PTZ), que reproduz um quadro parecido ao encontrado na crise epiléptica do “pequeno-mal” (SIQUEIRA, 2011). O modelo de epilepsia induzida pelo PTZ pode resultar em crises de ausência, crises mioclônicas e crises tônico-clônicas, sendo sua expressão muito semelhante a estes tipos de epilepsias em humanos (MARESCAUX et al., 1984).

Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) passou a reconhecer o uso de plantas medicinais para diversas finalidades no âmbito da saúde, como: para fins paliativos, curativos, profiláticos e diagnósticos. Com isso, o Brasil, como país detentor de uma imensa e variada flora, a qual abriga uma excepcional quantidade de plantas que podem ser usadas com objetivos medicinais, tornou-se possuidor de um grande potencial voltado para a pesquisa e descoberta de plantas com novas propriedades terapêuticas (BRASIL, 2006a; BRASIL, 2006b).

Apesar dos estudos acerca do uso de plantas medicinais e de suas propriedades terapêuticas, sabe-se que o uso indevido e/ou incorreto de plantas medicinais pode levar a um processo conhecido como intoxicação, que dependendo da gravidade do quadro, além de

complicações graves a saúde seja permanente ou passageira, podem levar o indivíduo a óbito. Muitas são as plantas que vem sendo relatadas com relação a seu potencial tóxico, sendo a convulsão como um de seus efeitos adversos.

A Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS (RENISUS) é uma pequena amostra da importância e uso dessas. Dentre as várias espécies de plantas medicinais, encontra-se a espécie *Spilanthes acmella*, conhecida popularmente como jambú, que se destaca por apresentar inúmeras aplicações na área da medicina popular (SANTOS, 2010). Segundo Borges (2009), o jambú é recomendado na medicina popular para a elaboração de infusões no tratamento de anemia, dispepsia, malária, afecções da boca (dor de dente) e da garganta, contra escorbuto e também como antibiótico e anestésico.

O jambu (*Spilanthes acmella*), é uma hortaliça de largo consumo no estado do Pará. Sua composição química, incluindo o espilantol, apresenta potencial para uso industrial, sendo ainda citado como indicativo para diversas doenças. Centenas de produtores cultivam jambu na região produtora de hortaliças que abastece a grande Belém (GUSMAO et al.). Além de sua aplicação na medicina popular, esta hortaliça também está fortemente inserida na culinária regional. Pratos típicos como pato no tucupi e tacaca, são alguns deles, onde está é apreciada devido ao efeito de dormência que a mesma apresenta em contato com os lábios, sendo também considerada uma hortaliça afrodisíaca.

O jambu passou a despertar interesse na indústria farmacêutica, bem como ser utilizado na composição de cosméticos devido a suas propriedades rejuvenescedoras. O espilantol presente na hortaliça apresenta ação miorelaxante sobre os músculos, o que é utilizado em cosméticos com o intuito de causar diminuição nas linhas de expressão, resultando em suavização das rugas do rosto (JOHN, 2011). A partir daí diversos estudos acerca de sua composição química bem como suas possíveis utilizações no âmbito da pesquisa e saúde passaram a ser desenvolvidos por diversos pesquisadores no mundo.

Moreira et al (1989) realizaram um trabalho com base nos efeitos de diferentes extratos da *Spilanthes acmella*, no qual camundongos foram tratados por via intraperitoneal com esses diferentes extratos com o objetivo de caracterizar os efeitos convulsivante dessa espécie vegetal. Os resultados dessa pesquisa mostraram que os diferentes extratos foram capazes de desencadear alterações comportamentais características de atividade convulsiva de maneira dose-dependente, concluindo-se então que a *Spilanthes acmella* contém princípio ativo que pode induzir crises epileptiformes.

Para as pesquisas e obtenção dos extratos são utilizadas as mais variadas partes da planta, como folhas, flores, caule e raiz. Para o presente estudo, o extrato etanólico foi obtido das flores maduras da *Spilanthes acmella*. Como controle positivo, o modelo experimental aplicado foi o do pentilenotetrazol, onde este serviu como parâmetro para a análise eletroencefalográfica, bem como base para a análise dos resultados obtidos através do emprego do EEFSa.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Epilepsia**

A epilepsia é um distúrbio caracterizado por episódios de crises convulsivas relacionadas a descargas de alta frequência não fisiológicas por um grupo de neurônios no cérebro, podendo assumir várias formas dependendo da área do cérebro afetada, que pode ter início como descarga local, propagando para outras áreas do cérebro (RANG; DALE, 2007).

O sistema mais utilizado na classificação de crises epiléticas foi proposto pela Liga Internacional Contra a Epilepsia, que de acordo com o sistema considera as crises como parciais, que se subdividem em simples ou complexas e crises generalizadas (ARANDAS; SENA, 2006). As crises epiléticas podem ser generalizadas quando se espalham por todo o cérebro, ou crises parciais quando se restringe a uma parte específica podendo ser simples: que têm início focalmente, e quanto mais restrita for a área afetada, é menos provável que a consciência seja alterada (MD, 2001) ou complexa: que são caracterizadas por distúrbios de consciência devido à disseminação de descarga epilética, com perda de consciência, mostrando-se confuso e desorientado (PEDLEY; BAZIL; MORRELL, 2006).

O mais antigo relato descrito sobre epilepsia está contido em um manuscrito no museu britânico, datado acerca de 2000 a.C. no qual descreve a epilepsia como um castigo de Deus associado a nomes de espíritos do mal (COSTA et al. 2012).

A epilepsia afeta 0,5% a 1% da população, sendo resultado de inúmeras etiologias e diversos fatores como: traumatismo no nascimento, incompatibilidade sanguínea ou hemorragia, doenças infecciosas como: meningite, abuso de bebida alcoólica, de drogas, tumores cerebrais, traumatismo craniano, doenças metabólicas e acidentes vasculares cerebrais. Aproximadamente 50% dos casos são idiopáticos e muitas vezes não é possível conhecer as causas que deram origem à epilepsia (MD, 2001).

#### **2.1.1. Crises convulsivas**

As crises epiléticas com manifestações motoras são definidas como convulsões (CASELLA; MÂNGIA, 1999). Crises generalizadas são aquelas cuja semiologia inicial indica o envolvimento de áreas encefálicas amplas de ambos os hemisférios cerebrais. Segundo a nova proposta de classificação, o termo convulsão, significando episódios de contração muscular excessiva e anormal, mantida ou interrompida, usualmente bilateral, não deve ser utilizado desde que se trata primariamente de um termo leigo e usado inapropriadamente em muitas situações de crises com fenômenos motores (BLUMW et al. 2001). O tipo de crise epilética reflete a presença da descarga epilética no córtex cerebral,

estando relacionado ao seu início e disseminação. As crises generalizadas representam a presença de atividade epiléptica simultânea nos dois hemisférios cerebrais, havendo obrigatoriamente a perda da consciência (CASELLA; MÂNGIA, 1999). Quando o evento epiléptico se inicia em um hemisfério cerebral, a crise é denominada parcial. As crises parciais podem ser denominadas ainda de simples ou complexas, dependendo da consciência estar preservada ou alterada, respectivamente (CASELLA; MÂNGIA, 1999).

As crises tônico-clônicas (também chamadas crises de grande mal) são caracterizadas por contração tônica simétrica e bilateral seguida de contração clônica dos quatro membros usualmente associadas a fenômenos autonômicos como apnéia, liberação esfinteriana, sialorréia e mordedura de língua, durante cerca de um minuto. Na fase de contração tônica, o ar pode ser expulso através da glote fechada, o que resulta no grito epiléptico. O período pós-crítico é caracterizado por confusão mental e sonolência (YACUBIAN, 2002). Crises clônicas são caracterizadas pela ocorrência de mioclonias repetidas a intervalos regulares, rítmicas, na sequência de 2 a 3 c/s ocorrendo durante vários segundos a minutos (YACUBIAN, 2002). Nas crises tônicas ocorre contração muscular mantida com duração de poucos segundos a minutos. Em geral, as crises tônicas duram de 10 a 20 segundos e podem comprometer apenas a musculatura axial (crises tônicas axiais) ou também a das raízes dos membros (crises tônicas axorizoméricas) ou então todo o corpo, configurando a crise tônica global (YACUBIAN, 2002).

Crises de ausência típica consistem de breves episódios de comprometimento de consciência acompanhados por manifestações motoras muito discretas e Crises de ausências atípicas, que são crises onde o comprometimento da consciência é menor, o início e término são menos abruptos e o tônus muscular mostra-se alterado, as crises mioclônicas são contrações musculares súbitas, breves (< 100 ms), que se assemelham a choques (YACUBIAN, 2002).

Crises não provocadas são aquelas nas quais não há fatores deflagradores identificáveis, como, por exemplo, febre, traumatismo cranioencefálico (TCE) ou distúrbio metabólico. Crises não provocadas idiopáticas são aquelas nas quais os achados clínico-eletroencefalográficos são bem definidos, ficando o termo idiopático reservado para epilepsias genéticas (CCTILE, 1989).

A ocorrência de uma crise epiléptica se dá pela ativação de um grupo de neurônios simultaneamente gerando interrupção das ligações inibitórias entre os grupos de neurônios cerebrais (COSTA et al., 2012). O mecanismo patogênico das crises epilépticas está associado ao descontrole nos canais iônicos na excitação e bloqueio das sinapses (COSTA et al., 2012). O sinal fundamental e característico da epilepsia é a recorrência de crises convulsivas, podendo, assim, variar sua característica fisiopatológica em cada tipo de crise (MOREIRA, 2004). Todos os tipos de convulsões apresentam sinais e sintomas semelhantes, envolvendo alterações de consciência, dos movimentos, do comportamento e da percepção (COSTA et al., 2012).

Existem diferenças significativas no tipo de tratamento medicamentoso, assim como na abordagem diagnóstica e no prognóstico para as diferentes crises epiléticas. (CASELLA; MÂNGIA, 1999). As drogas antiepiléticas são completamente eficazes no controle das convulsões em 50-80% dos pacientes. O termo antiepilético é usado como sinônimo dos anticonvulsivantes, para descrever drogas utilizadas no tratamento da epilepsia que obrigatoriamente não causam convulsões, assim como distúrbio convulsivo não epilético (RANG; DALE, 2007). Dentre as medicações mais utilizadas estão: fenobarbital, fenitoína, carbamazepina e valproato (RANG; DALE, 2007).

### **2.1.2. Pentilenotetrazol**

No princípio classificado como estimulante cardiovascular, o PTZ, conhecido também como cardiozol, leptazol, metrazol, pentazol, ou, simplesmente, PTZ, apresenta atividade convulsivante em camundongos, ratos, macacos e humanos (FUNCHAL, 2014). É solúvel em água e solução salina. Pode ser administrado pelas vias subcutânea, intraperitoneal e intravenosa, sendo a via i.p. a mais utilizada (FUNCHAL, 2014).

O PTZ é uma das principais substâncias indutoras de convulsão utilizadas na triagem pré-clínica de novos fármacos anticonvulsivantes (LÖSCHER & SCHMIDT, 2002) podendo ser utilizado como modelo de crise generalizada dos tipos ausência, mioclônicas e de crises tônico-clônicas (OLIVEIRA, et al., 2001). A indução química de convulsão por PTZ é o mais popular modelo de convulsão induzido farmacologicamente (BRUM & ELISABETSKY, 2000; PAVLOVA et al., 2006). Baixas doses administradas repetidamente em ratos com 12 a 18 dias de vida podem induzir o estado de mal epilético. Já para se obter convulsões tônico-clônicas necessita-se de doses em torno de 100 mg/kg e elas são observadas poucos minutos após a administração do PTZ (FUNCHAL, 2014). A duração das crises tônico-clônicas após aplicação s.c. ou i.p. é de cerca de 5 minutos em roedores (BRITO et al., 2006).

A ação convulsivante do PTZ deve-se ao seu antagonismo não competitivo sobre os receptores GABA<sub>A</sub>, diminuindo assim a ação inibitória do GABA no SNC (RAMANJANEYULU e TICKU, 1984). Uma consequência disso parece ser a liberação de uma multiplicidade de mecanismos sinápticos mediados pela ativação de três principais receptores ionotrópicos do glutamato (NMDA – N-metil-D-aspartato, AMPA-ácido alfa-amino-3-hidróxido-5-metil-4 isoxazole propiônico e cainato) (DHIR et al., 2005; LUKOMSKAYA et al., 2007). A medida que o PTZ atinge o SNC ele se liga aos receptores GABA<sub>A</sub> impedindo a ação do GABA, consequentemente bloqueando o influxo de íons Cl<sup>-</sup> e o efluxo de íons K<sup>+</sup> do neurônio (RAMANJANEYULU e TICKU, 1984). Devido a sua ação antagonista sobre os receptores GABA<sub>A</sub>, o PTZ provoca um desequilíbrio no balanço excitação/inibição no SNC, resultando na hiperexcitabilidade neural e gerando uma crise epilética generalizada (FERANDO e MODY, 2012).

Estudos têm demonstrado que o tratamento com o PTZ tem a capacidade de produzir dano neuronal em nível de DNA, proteínas e lipídeos (ILHAN et al., 2004, AKBAS, et al., 2005; GUZMAN et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2008). Outros estudos também demonstraram que o PTZ pode atuar alterando a permeabilidade da membrana celular a potássio através de um mecanismo dependente de voltagem (MADEJA et al., 1996). Decorrente da alta reprodutibilidade do modelo de PTZ e fácil observação da crise (visual), pesquisadores utilizam-no para testes de compostos com potencial (SHORVON, 2009<sup>a</sup>; SHORVON, 2009b).

Além do modelo agudo do PTZ, outros modelos também são utilizados, sendo estes: estimulação elétrica in vivo, eletrochoque e uso de inibidores de aminoácidos inibitórios como bicuculina, picrotoxina e estriknina (BRUNO, 2002).

### **2.1.3. Eletroencefalograma**

O sistema nervoso é altamente especializado na rápida e eficiente transmissão de impulsos nervosos através de potenciais elétricos gerados e membranas celulares (RIBEIRO, 2013). Estes potenciais são criados a partir da movimentação de íons através das membranas dos neurônios, que surgira como células excitáveis e componentes fundamentais dos tecidos nervosos, glandulares e musculares. A abertura dos canais iônicos presentes na membrana celular possibilita a mudança de seu potencial de repouso, invertendo sua polaridade momentaneamente e levando ao surgimento de um potencial de ação que pode se propagar por longas distâncias e transmitir o estímulo para células vizinhas que sejam capazes de se excitar na presença desse tipo de estímulo (RIBEIRO, 2013).

A variação desses potenciais pode ser medida, avaliada e, dessa forma, usada para diagnosticar possíveis alterações fisiológicas. O registro das variações de potencial elétrico produzidas pelos neurônios do cérebro é chamado de eletroencefalograma (RIBEIRO, 2013). O eletroencefalograma (EEG) corresponde ao mais importante procedimento no diagnóstico e manuseio das epilepsias, quando somado aos aspectos clínicos do paciente.

As raízes do EEG estão em um trabalho realizado pelo fisiologista inglês Richard Caton, em 1875. Utilizando um mecanismo primitivo sensível a voltagem, Caton fez registros elétricos a partir da superfície dos encéfalos de cães e coelhos. Em 1929, Hans Berger, um psiquiatra austríaco, descreve o primeiro EEG em humanos. Atualmente, o EEG tem sido utilizado para auxiliar no diagnóstico de determinadas condições patológicas e na investigação no estudo do sono (BEAR, 2008). É consenso que o eletroencefalograma (EEG, registro dos potenciais elétricos gerados pelo encéfalo). Constitui o exame mais valioso no estudo de um paciente em estado convulsivo (DELAMÓNICA, 2010).

O eletroencefalograma (EEG) permite visualizar a atividade generalizada do córtex cerebral. Consiste em um método não invasivo e indolor, onde são fixados eletrodos a um escalpo em posições-padrão na cabeça e conectados a canais de amplificadores e sistemas de

registros, com adesivo condutor para assegurar uma conexão de baixa resistência (BEAR, 2008).

Os ritmos do EEG variam consideravelmente e correlaciona-se com frequência a determinados estados do comportamento e com patologias. Estes ritmos são categorizados pela faixa de frequência, e cada faixa é denominada utilizando-se uma letra grega (RIBEIRO, 2013).

<b>Gama</b>	São os mais rápidos, maiores que 30 Hz.
<b>Beta</b>	São rápidos, acima de 14 Hz, e sinalizam um córtex ativado.
<b>Alfa</b>	Encontra-se entre 8 e 13 Hz, estão associados a estados de vigília, em c/ repouso.
<b>Teta</b>	Entre 4 a 7 Hz, ocorrem durante alguns estados do sono.
<b>Delta</b>	São os mais lentos, inferiores a 4 Hz, mas grandes em amplitude. Indicam profundo.

Tabela 1: Ritmos em Eletroencefalograma. Fonte: Bear, 2008.

Em doentes epilépticos pode ser interictal ou ictal. O primeiro se registra quando o paciente está livre de sintomas; o segundo, durante a crise clínica. As crises miotônicas caracterizam-se por contrações muito breves (1s) de um músculo único ou grupo de músculos, a qual se observa através do olhar clínico, manifestando-se discretamente no EEG (GARCIA; TSURUTA). Já a crise tônico-clônica generalizada inicia-se com atividade rápida difusa ou localizada. Geralmente esta atividade rápida começa em forma local, que paulatinamente se propaga para áreas vizinhas, à medida que aumenta moderadamente de amplitude. Terminada a crise clínica, observa-se somente atividade lenta generalizada, de amplitude moderada a baixa, que corresponde ao período pósictal (DELAMÓNICA, 2010).

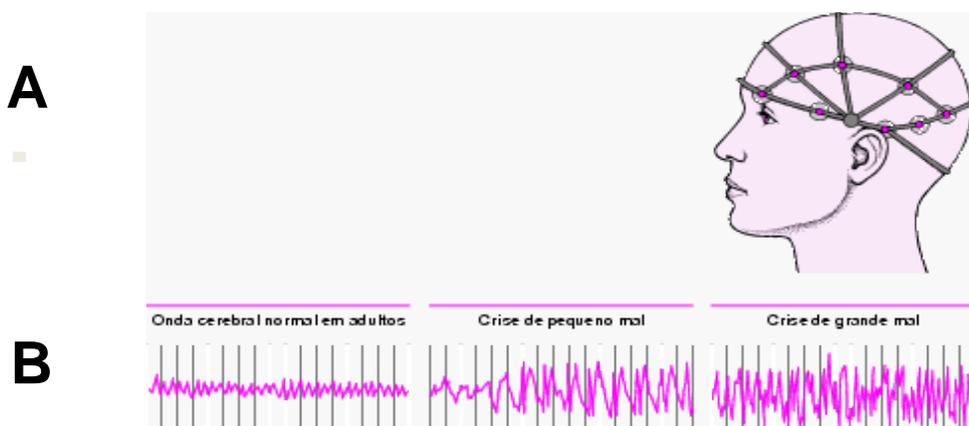


Figura 1:A) Representação da posição dos eletrodos no escalpo em posição-padrão. B) Representação das frequências e amplitudes em diferentes estados na análise eletroencefalográfica. Fonte:www.manuaismsd.pt

Segundo Bear (2008), as atividades encefálicas anormais podem ser vistas nos registros de EEG durante crises epiléticas. No momento em que ocorre a crise, o registro passa a apresentar uma atividade extremamente sincrônica, usualmente acompanhada por padrões de EEG de grande amplitude e frequência, que nunca ocorre durante um comportamento normal.

De acordo com Pinto (2006), a atividade cerebral é espontânea e contínua, podendo ser evidenciada durante a vigília, o sono, a anestesia e o coma, cessando apenas nos estados extremos de anóxia cerebral.

## **2.2. A cultura do jambu**

A cultura do jambu tem o ciclo de 45-70 dias, exige pouca tecnologia para o seu manuseio e é muito cultivado entre os pequenos agricultores. Sua germinação ocorre entre 5-7 dias aproximadamente. A colheita, na Região Norte, é realizada entre 35 a 50 dias após o transplântio (CARDOSO; GARCIA, 1997). No Estado de São Paulo, a espécie de jambu tem apresentado, geralmente, ciclo de 90 dias. O rendimento varia de seis a dez maços por m<sup>2</sup> de canteiro. Cada maço possui de 300 a 500g. A colheita ocorre quando inicia a floração, podendo ser retardada ou antecipada em função do mercado (GUSMAO, et al.). O jambu mais cultivado apresenta folha verde-claro com flores amarelas. Existe, o tipo roxinho, cuja folha é um verde mais intenso, possui ramos de cor roxa e as inflorescências com um halo, também, de cor arroxeada (HOMMA et al., 2011).

Há relatos do cultivo de jambu na Índia, na América Central, em alguns países da Europa e, sobretudo, na Ásia, onde ele já é plantado para o consumo como alimento (CARDOSO, 1997). Na China, os ramos, as folhas e as inflorescências são comercializadas secas e existem diversos pratos considerados iguarias que incluem a erva, eventualmente usada, também, para suavizar pimentas muito ardidas (JOHN, 2011). Devido ao seu uso popular para fins medicinais e ao crescente interesse da indústria de cosméticos, nos últimos anos a planta vem sendo cultivada nas regiões Centro Oeste e Sudeste do Brasil (CAVALCANTI, 2008).



Figura 2: Distribuição geográfica no Brasil do cultivo do jambú.

A medicina tradicional recomenda suas folhas e flores na elaboração de infusões no tratamento de anemia, dispepsia, malária, afecções da boca (dor de dente) e da garganta, contra escorbuto e também como antibiótico e anestésico (RANZI, 2005). Trabalhos realizados por Moreira et al. (1987), mostraram que o extrato hexânico das folhas desta planta é capaz de induzir convulsões tônico-clônicas em camundongos quando administrado por via intraperitoneal.

As folhas apresentam sabor acre e pungente, por isso são muito utilizadas em condimentos (CARDOSO; GARCIA, 1997). Os principais usos observados para esta planta na culinária incluem: complemento alimentar em refeições típicas como, tacacá, rabada no tucupi e pato no tucupi, onde é utilizada a planta inteira cozida em tucupi; também pode ser servida em saladas, depois de cozida, ou, raramente, crua. Nas duas últimas décadas, além do uso de outros animais assados em substituição ao pato, popularizou o uso do jambu com arroz (arroz paraense), pizza de jambu, uso na indústria cosmética, salada de folha in natura de jambu, como pickles pelos descendentes de japoneses (HOMMA et al., 2011). A planta contém uma substância ligeiramente picante que aumenta a salivação quando mastigada.

O jambu apresenta bom valor nutritivo a cada 100 gramas de folhas. Contém 89,0 g de água e apresenta valor energético de aproximadamente 32,0 calorias. Contém em cada 100 g: 1,9 g de proteínas, 0,3 g de lipídios, 7,2 g de carboidratos, 1,3 g de fibras, 1,6 g de cinzas, 162,0 mg de cálcio, 41 mg de fósforo, 4,0 mg de ferro, 0,03 mg de vitamina B1, 0,21 mg de vitamina B2, 1,0 mg de niacina e 20,0 mg de vitamina C (VILLACHICA, et al., 1996; BORGES, 2009).



Figura 3: Folhas de jambu em feira. Fonte: <http://tucupicomjambu.blogspot.com.br/>

### 2.3. Família *Asteraceae*

Dentre os vários grupos vegetais, a família *Asteraceae*, anteriormente conhecida como *Compositae*, está entre as mais importantes, não só por apresentar grande diversidade de espécies, mas também por estas espécies possuírem diversos compostos de aplicação terapêutica. Variadas espécies desta família são produtoras, principalmente, de óleo essencial, estes são de grande importância comercial, utilizados em indústrias de perfumes, cosméticos e licores (CRAVEIRO et al., 1981; AGOSTINI et al., 2005).

Composta por aproximadamente 25.000 espécies distribuídas em 1.100 gêneros (MOREIRA et al., 2003). A família *Asteraceae* é a maior das famílias de dicotiledôneas, representada no Brasil por 300 gêneros e 2000 espécies, sendo estas de distribuição cosmopolita (SOUZA & LORENZI, 2005). Dentre estas espécies estão membros como a alface, chicória, girassol, camomila e carqueja, além de outros de grande importância econômica e nutricional para a sociedade (SILVA, 2015).

Estão presentes nesta família os gêneros *Acmella* e *Spilanthes*, sendo o gênero *Acmella* o primeiro a ser descrito, por volta de 1807. Hayata (1904) e Kitamura (1941), em seus estudos sobre o *Compositae* taiwanês, enumeraram-no como *Spilanthes acmella* (L.) Murray. Ambos os gêneros eram considerados como um só, onde De Candolle em 1836 considerou o gênero *Acmella* como sendo uma seção do gênero *Spilanthes*. Em 1981-85, R.K. Jansen revisou estes gêneros e confirmou, por estudos morfológicos e cromossômicos, que ambos eram gêneros distintos, com características distintas (MOORE, 1907), alocando ao gênero, *Acmella* aproximadamente 30 espécies e ao *Spilanthes* 6 espécies distribuídas pelo mundo (BRINGEL JR., 2007).

Em regiões de climas tropicais e subtropicais, há uma grande expressão do gênero *Spilanthes*. Dentre as principais características da planta estão a presença de caule cilíndrico, ramos decumbentes, podendo apresentar ou não raízes nos nós, raiz principal pivotante, com

ramificações laterais abundantes e raízes adventícias no caule e nos ramos que estão em contato com o solo (VILLACHICA et al., 1996). Segundo Hind e Biggs (2003), suas folhas apresentam formato simples, com lâmina amplamente ovada de 53 a 106 mm de comprimento e 40 a 79 mm de largura, apresentando pêlos esparsos em ambas as superfícies. Apresenta flores pequenas e amareladas, dispostas em capítulos que medem cerca de 1 cm de diâmetro (REVILLA, 2001). O fruto é um aquênio de tamanho bem pequeno, com pericarpo cinza escuro, parcialmente cercado por páleas membranosas (VILLACHICA et al., 1996). A planta floresce durante todo o ano nos trópicos e durante o início do verão em regiões temperadas (HIND & BIGGS, 2003).



Figura 4: Aspecto das flores e folhas da *Spilanthes acmella*.

Fonte: <http://tucupicomjambu.blogspot.com.br/>

### 2.3.1. *Spilanthes acmella*

Conhecida popularmente como jambu, agrião-do-pará, agrião bravo, agrião do Norte, botão de ouro, planta da dor de dente, jambuaçu, pimenteira do Pará (NASCIMENTO, 2012), esta possui ainda como sinonímias botânicas *Acmella oleracea* L. (JANSEN, 1985), *Spilanthes acmella* var. *oleracea* (CAVALCANTI, 2008), e *Acmella ciliata* Kunth (VULPI et al., 2007).

*S. acmella* tem distribuição ampla por toda região amazônica, desenvolvendo-se bem em climas quentes e úmidos, com temperaturas médias de 25,9° C, precipitação anual de 2.761 mm ao ano, evapotranspiração potencial de 1.455 mm, umidade relativa do ar 86% e 2.389 horas anuais de luz solar (VILLACHICA et al., 1996). Quanto a sua origem, há diferentes hipóteses, segundo Jansen (1985), esta pertence provavelmente ao Peru ou ao Brasil, já para Villachica et al. (1996), a planta é nativa da Amazônia Oriental. A *S. acmella* tem preferência por locais úmidos e crescem bem ao longo de margens de lagos (HIND e BIGGS, 2003).

A *Spilanthes acmella* se multiplica tanto por sementes como por hastes enraizadas (REVILLA, 2001). É uma planta herbácea anual, perene, de 20-40 cm de altura, semiereta ou

quase rasteira, com caule cilíndrico, carnoso e de ramos decumbentes, geralmente sem raízes nos nós. A raiz principal é pivotante, com abundantes ramificações laterais (LORENZI; MATOS, 2002). De acordo com a descrição de Hind e Biggs (2003), suas folhas são compostas, membráceas com pecíolos, com glândulas pilóricas, são unisseriadas, de base multicelular, levemente protuberantes, marrom, com extremidade unicelular longa, delgada e branca. Ainda segundo Hind e Biggs (2003), seu receptáculo é cônico, branco, áspero, os pêlos são translúcidos, unisseriados, curtos, de base pálea, em ângulo reto, e ápice agudo. As flores são pequenas, amareladas, com áreas púrpuras distintas na pálea do cálice, bem visível em capítulos imaturos, dispostas em capítulos globosos terminais que medem cerca de 1,0cm de diâmetro. São hermafroditas, numerosas (400 a 620) e férteis; o tubo da corola mede entre 2,7-3,3 mm de comprimento. Seu fruto é um aquênio pequeno, sendo seu pericarpo de cor cinza-escuro (FAVORETO; GILBERT, 2010).

O jambu é rico em isobutilamidas bioativas. A principal molécula e a mais bioativa é o alcalóide anti-séptico Nisobutilamida do ácido (2E, 6Z, 8E)-deca-2,6,8-trienóico, comumente chamado de espilantol. Devido à presença desta substância, a planta possui aplicação tradicional em produtos farmacêuticos, alimentos, e produtos para a saúde e cuidados pessoais. Também é conhecido como antimicrobiano (FABRY et al., 1996, 1998; PRASAD; SEENAYA, 2000), larvicida (RAMSEWAK et al., 1999; SARAF; DIXIT, 2002; PANDEY et al., 2007), e inseticida (KRISHINASWAMY et al., 1975; BORGES-DEL-CASTILLO et al., 1984), As flores e as folhas de *Spilanthes acmella* contém aminoácidos (MONDAL et al., 1998; PEIRIS et al., 2001), alcalóides (PEIRIS et al., 2001) e Nisobutilamidas (espilantol) (RAMSEWAK et al., 1999).



Figura 5: Aspecto detalhado da flor de *S. acmella* (jambú).

### 2.3.2. Metabólitos Secundários

O metabolismo das plantas é dividido em primário e secundário, de acordo com as reações químicas que estes desempenham. Os metabólitos secundários são substâncias ligadas à sobrevivência da planta, conferindo-lhe vantagens. Diferente dos metabólitos primários que são essenciais para a sobrevivência das células (SIMÕES et al., 2003).

As alcanidas constituem um grupo de metabólitos secundários comum a várias plantas, sendo aquelas da família *Asteraceae* as principais produtoras destes compostos, contendo derivados acetilênicos e olefinícos (GREGER, 1984). Nas alcanidas, ou alquilamidas, diferentes aminas são combinadas com ácidos graxos insaturados por uma ligação amida (NASCIMENTO, 2012).

O crescente interesse nas alcanidas se deve aos diversos tipos de atividades biológicas, como atividade anti-inflamatória (WU et al., 2008) e anestésica local que podem ser observadas pela administração destas, mesmo em pequenas quantidades. Esse tipo de molécula pode apresentar respostas notáveis em células receptoras, tendo as alcanidas alifáticas demonstrado eficácia como compostos medicinais (MOLINA-TORRES & VHAVES, 2001). A alcanida mais conhecida da planta *S. acmella* responsável por várias atividades biológicas, é o espilantol [(N-2-metilpropil) -2,6,8-decatrienamida ou Nisobutil-2E6Z8E-decatrienamida)], uma alcanida olefínica, com estrutura química idêntica a da afinina, isolada de *Heliopsis longipes* (NAKATANI & NAGASHIMA, 1992). Esta alcanida é abundante nos capítulos florais de *S. acmella* (FAVORETO & GILBERT, 2010) sendo sua fórmula molecular C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>NO.

O espilantol foi descrito como um óleo viscoso, ardente, de coloração amarela pálida a amarela clara (CAVALCANTI, 2008). As seguintes propriedades físicas do espilantol são relatadas: massa molecular de 221 g/mol; ponto de fusão de 23 °C; ponto de ebulição de 165 °C; índice de refração a 25 °C de 1,5135; absorção máxima em 228,5 nm (JACOBSON, 1957). Atribui-se ao espilantol o efeito de anestesia e formigamento característicos da planta.

(2E,6Z,8E)-N-isobutil-2,6,8-decatrienamida

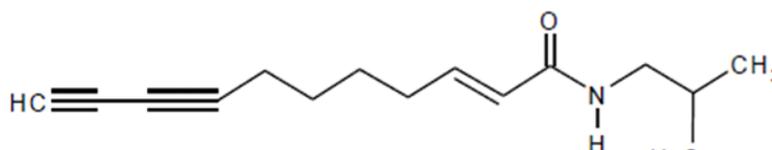


Figura 6: Representação da estrutura química do espilantol.

Ratnasooriva et al. (2004) e Chakraborty et al. (2004, 2010) relatam em seus estudos que, além do espilantol, outros metabólitos, como, alcalóides e flavonóides podem estar relacionados aos efeitos diurético, anti-inflamatório e antipirético observados com a administração de extratos da planta em ratos. A atividade dos flavonoides como antioxidante é decorrente da capacidade de reduzir a formação de radicais livres e neutralizar as espécies oxidantes e pode ser correlacionada a sua atividade como fotoprotetora nos vegetais (MILITÃO, 2005). Quanto aos alcaloides de origem vegetal, estes tem sido muito estudado, possibilitando a descoberta de inúmeras substâncias que vem sendo utilizadas no tratamento de diversas doenças, como câncer de mama, leucemia, linfoma, câncer de pulmão e testículo (BRANDÃO et al., 2010; MORAES; ALONSO; OLIVEIRA-FILHO, 2011).

<b>Parte da planta responsável</b>	<b>Atividade farmacológica</b>
<b>Planta inteira</b>	Anestésico local, atividade antipirética, anti-inflamatório, atividade analgésica, larvívica e antimalárico (espilantol), afrodisíaca, imunomodulador, convulsão.
<b>Flores</b>	Atividade antifúngica, diurética, vaso relaxante, inibição da lipase pancreática.
<b>Folhas</b>	Atividade antioxidante.

Tabela 2: Resumo das ações farmacológicas de *Spilanthes acmella*. Fonte: feita com base no artigo de revisão Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology of *Spilanthes acmella*.

### 3. JUSTIFICATIVA

Este trabalho tem como justificativa a investigação do quadro de convulsão ocasionado devido a aplicação do extrato etanólico da hortalíça *Spilanthes acmella* em ratos wistar, planta amplamente distribuída no território nacional e de uso difundido tanto na culinária da região Norte quanto na medicina popular.

Desta forma, o presente estudo busca verificar o potencial desta planta para provocar crises convulsivas semelhantes às apresentadas pelo modelo experimental Pentilenotetrazol, através da análise de seu comportamento eletroencefalográfico, a fim de propor que este possa vir a se tornar um modelo de convulsão eficaz e que possa contribuir com o desenvolvimento do estudo sobre epilepsias bem como auxiliar nos testes de novos fármacos a serem utilizados no tratamento desta doença, visto que nem sempre o paciente responde adequadamente ao tratamento existente.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo geral

Este trabalho foi realizado com o intuito de avaliar os efeitos do extrato etanólico da flor de *Spilanthes acmella* sobre o SNC a fim de caracterizar seu padrão pro-convulsivante, possibilitando que este possa vir a ser utilizado como modelo experimental para a convulsão.

### 4.2. Objetivos específicos

- Avaliar o potencial do extrato etanólico de *Spilanthes acmella* como modelo pro-convulsivante.
- Caracterizar os registros eletroencefalográficos de animais em convulsão, após aplicação do extrato etanólico.
- Correlacionar os dados obtidos no eletroencefalograma de animais sob o efeito de pentilenotetrazol com os dados de extrato etanólico da flor de *Spilanthes acmella*, a fim de comparar sua eficácia.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1. Animais

Para o trabalho foram utilizados trinta ratos wistar machos adultos, pesando entre 200 a 250g. Os animais foram obtidos do biotério central de Universidade Federal do Pará, e mantidos no Biotério de experimentação do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais, em ambiente com temperatura regulada (25 -28 °C), e ciclo claro – escuro de 12 horas. Mantidos três animais por gaiola para adaptação. Os animais foram alimentados *ad libitum*. O procedimento experimental foi autorizado e aprovado pelo comitê de éticas e pesquisa em animais de experimentação da Universidade Federal do Pará (CEPAE- UFPA), com o número de registro BIO 99/2015.

### 5.2. Extrato etanólico das flores de *Spilanthes acmella*

O extrato etanólico foi obtido das flores maduras de *Spilanthes acmella* (EEFSA), todo o processo foi conduzido no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais (UFPA). A planta foi coletada no Município de Belém, a confirmação da espécie foi feita por uma PhD em botânica da Embrapa (C.S. IAN5963).

Para caracterização eletroencefalográfica das alterações de potencial de campo a EEFSA foi usado na concentração de 100mg/ml, em Tween 20 a 0,05% (Sigma- Aldrich) e solução fisiológica 0,9%. Dados preliminares demonstraram que a dose efetiva mediana para observação das convulsões Tônico-clônica com perda do reflexo de postura foi de 1000mg/kg via intraperitoneal.

Como controle positivo foi utilizado o pentilenotetrazol (PTZ) Merck®, diluído em solução fisiológica 0,9% e Tween 20 a 0,05%, concentração de 10 mg/ml e aplicado por via Intraperitoneal na dose de 70 mg/kg.

O controle negativo foi feito com solução Tween 20 a 0,05% em fisiológica 0,9%, aplicado por via intraperitoneal em volume equivalente aos experimentos feitos acima.

### 5.3. Substâncias químicas

O anestésico cloridrato de quetamina foi obtido do laboratório Köing (Santana de Parnaíba, SP, Brazil), O cloridrato de xilazina foi obtido do laboratório Vallée (Montes Claros, MG, Brazil), O anestésico local lidocaína foi obtido pelo laboratório Hipolabor (Sabará, MG, Brazil).

#### **5.4. Procedimento para a implantação do eletrodo**

Os animais foram anestesiados com associação de Cloridrato Xilazina (5 mg/kg) e Cloridrato de quetamina (50mg/kg) por via i.p. Após a aplicação, o animal que apresentou perda de reflexo intergital foi fixado no aparelho estereotáxico, para a implantação de eletrodos. O procedimento foi iniciado com a tricotomia da pele da região da cabeça, com adequada assepsia, foi feita a infiltração de lidocaína a 2% no local da incisão cirúrgica que contém 3 cm rostro-caudal na linha mediana, expondo a superfície óssea do crânio. A lidocaína também foi aplicada no conduto auditivo externo para reduzir os efeitos da pressão das barras do aparelho estereotáxico. Após a exposição do osso do crânio foram feitas duas perfurações com aparelho odontológico, obedecendo as coordenadas estereotáxicas 0,96 mm posterior para bregma, 2 mm latero-lateral, onde foram implantados os eletrodos que apresentam 1 mm de diâmetro e acomodados na duramater, e fixado com acrílico autopolimerizante de uso odontológico.

#### **5.5. Delineamento Experimental**

Após o procedimento cirúrgico os animais foram mantidos 1 por caixa e acondicionados no biotério de experimentação. Foram formados três grupos de 10 animais (controle negativo, controle positivo e tratados com extrato). No sétimo dia após a cirurgia, os eletrodos foram conectados a um sistema de aquisição de dados, composto por um amplificador de alta impedância (Grass Technologies, P511), monitorado por um osciloscópio (Protek, 6510), os dados foram continuamente digitalizados em uma taxa de 1 KHz por um computador equipado com uma placa de aquisição de dados (National Instruments, Austin, TX) os dados foram armazenados em disco rígido e, processado através de um software especializado (LabVIEW express).

Após 10 minutos de acomodação, foi feita a aplicação da droga por via intraperitoneal e, a partir desse momento foi medido o tempo de latência para a ocorrência na mudança de traçado, o total de tempo para cada registro foi de 60 minutos. Os registros dos controles negativos foram feitos com protocolo semelhante utilizando solução fisiológica 0,9% e Tween 20 a 0,05% em volume equivalente ao obtido para o grupo de controle positivo e o grupo tratado.

## 5.6. Análise de dados

Para as análises dos sinais adquiridos uma ferramenta foi construída usando a linguagem de programação Python versão 2.7. As bibliotecas Numpy e Scipy foram usadas para o processamento matemático e a biblioteca Matplotlib para os gráficos. A interface gráfica foi desenvolvida utilizando a biblioteca PyQt4.

Os gráficos de amplitude demonstram a diferença de potencial entre os eletrodos de referência e de registro. Nos sinais foram observadas 1000 amostras por segundo. Os espectrogramas foram calculados usando uma janela de Hamming com 256 pontos (256/1000 segundos), cada quadro foi gerado com uma sobreposição de 128 pontos por janela. Para cada quadro a densidade de potência espectral (PSD) foi calculada pelo método periodograma média de Welch. O histograma de frequência foi gerado pelo primeiro cálculo do PSD do sinal usando a janela de Hamming com 256 pontos, sem sobreposição, com o PSD, resultando um histograma construído com caixas de 1 Hz. Para analisar a diferença entre os experimentos, um gráfico com a média e desvio padrão de PSD de vários experimentos foram construídos, cada onda do gráfico foi gerado a partir de um conjunto de testes, onde o PSD foi gerado e calculado a média e o desvio padrão de cada grupo, para, o cálculo da janela PSD Hamming foi usado 256 pontos sem sobreposição.

## 5.7. Análise estatística.

As comparações dos valores de potência foram feitas usando o teste t não-paramétrico e não pareado usando um software GraphPad Prism ® 5. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## 6. RESULTADOS

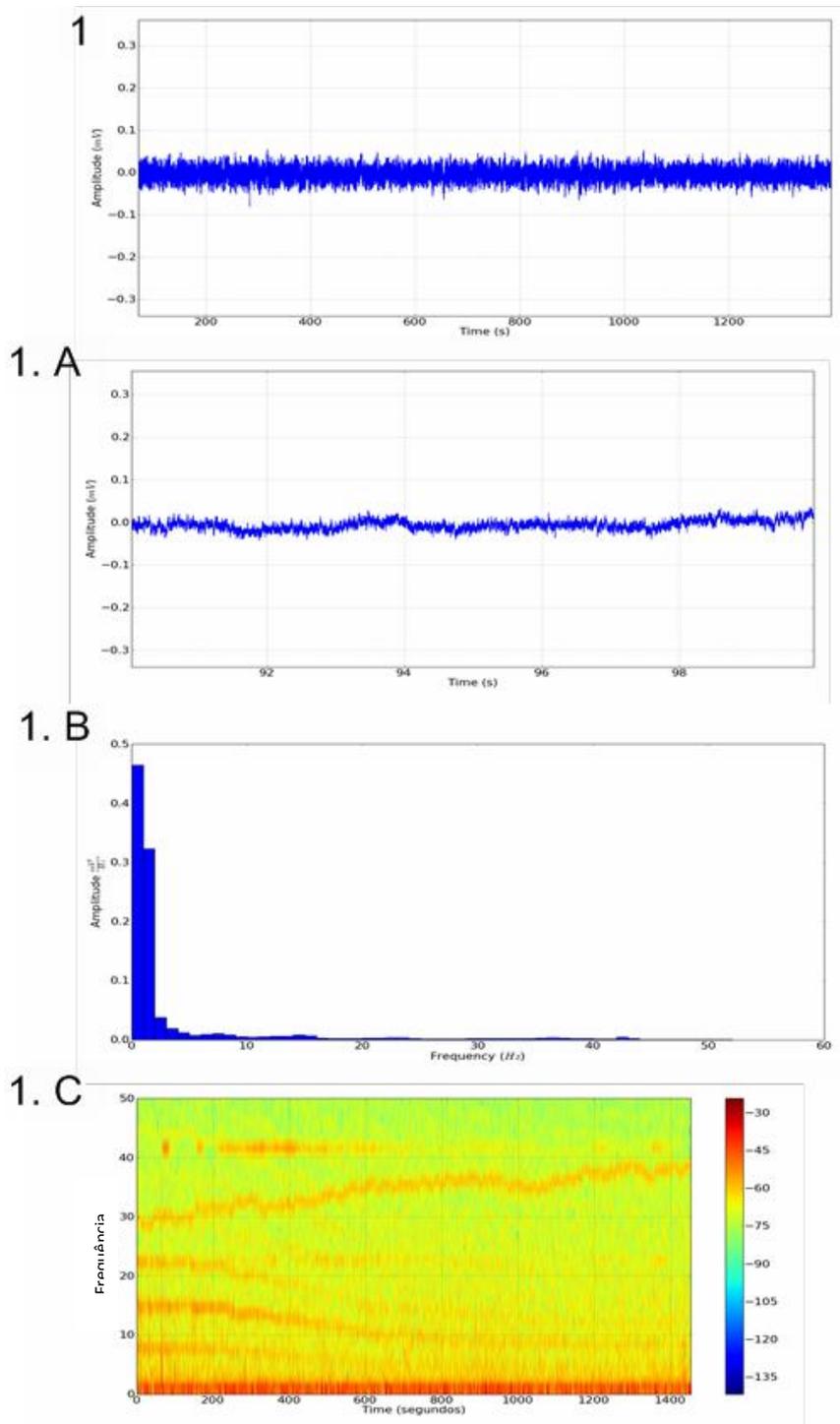
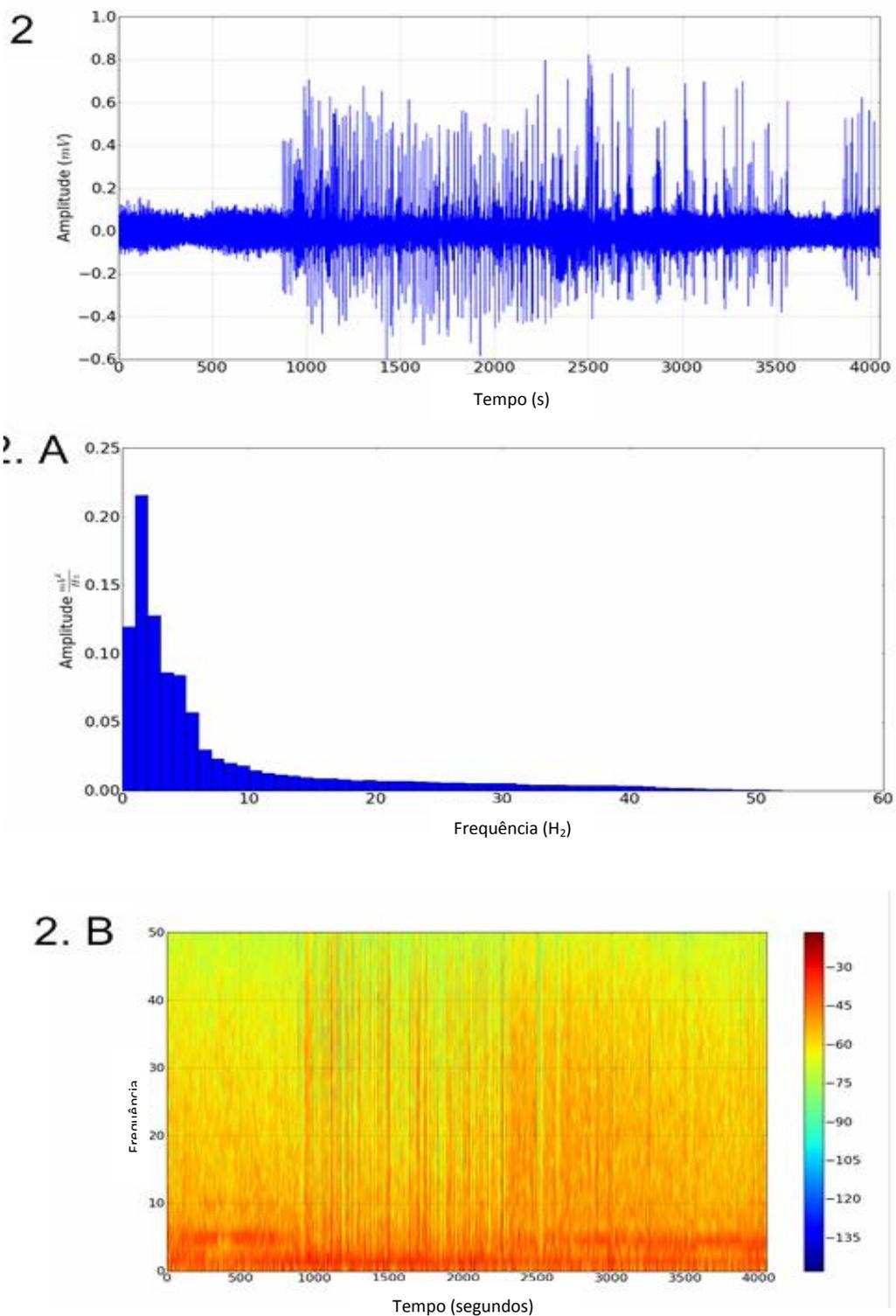


Fig. 7. Traçado do registro de potencial de campo no estado basal. Demonstrativo do sinal do registro obtido da região córtex motor primário do rato. (A) representa a ampliação de cinco segundos do traçado basal. (B) histograma demonstra a relação entre amplitude  $mV^2/Hz$  e frequência em Hz. (C) espectrograma relaciona a frequência (Hz) pelo tempo em segundos e confirma que ha concentração de energia nas frequências mais baixas (1- 4 Hz).

O registro basal mostra oscilações de baixa amplitude inferior a 0,05 mV (fig. 7 A) o espectrograma demonstra que a maior concentração de energia se encontra nas frequências abaixo de 10 Hz, mais especificamente entre 1 e 4 Hz (fig 7.C). Os histogramas das frequências confirmam que as maiores forças são encontradas respectivamente entre 1 e 4 Hz, com amplitude de 0,464 mV<sup>2</sup>/Hz e 0,3236 mV<sup>2</sup>/Hz, 0,03912 mV<sup>2</sup>/Hz e 0,0188 mV<sup>2</sup>/Hz respectivamente, em seguida ocorre diminuição gradativa da força nas frequências subsequentes. A partir da frequência de 10 Hz (0,004829 mV<sup>2</sup>/Hz) a força se estabiliza, e se mantêm sem grandes variações durante o intervalo de frequência que vai de 1 a 50 Hz (fig. 7.B).

Foram observados padrões de potencial de campo diferente nos animais tratados com 1000mg/kg de EEFSa via Intraperitoneal, se comparados ao grupo controle negativo, sugerindo uma alteração no potencial de campo captado pelos eletrodos, com presença de salva de potenciais e aumento da amplitude (fig.8). O espectrograma demonstrou que durante a salva de potencial ocorre o aumento da distribuição de energia entre 1 e 50 Hz (Fig. 8.B). Na figura 8.A, ocorre maior distribuição de força nas frequências de 1 a 50 Hz sendo mais proeminentes nas frequências de 1Hz (0,1199 mV<sup>2</sup>/Hz), 2 Hz (0,2151 mV<sup>2</sup>/Hz), 3 Hz (0,1275 mV<sup>2</sup>/Hz), 4Hz (0,08561 mV<sup>2</sup>/Hz) e 5Hz (0,08434 mV<sup>2</sup>/Hz), acontecendo a estabilização em 20 Hz (0,00685 mV<sup>2</sup>/Hz). As frequências de 1 e 2 Hz são menores do que as encontradas no registro basal e corresponde respectivamente 25,64% e 66,47% em relação às frequências obtidas no registro basal. Porém se comparado as potências de frequência acima de 3 Hz ocorre maior distribuição das forças, sendo que a razão entre as forças para as frequências atinge o máximo de diferença em 5 Hz com diferença de 10,412 vezes o resultado basal. A partir de 10 Hz as diferenças se tornam menores e a força obtida no potencial de campo no tratado corresponde a 3,524 vezes do que e obtido no registro basal, e em 20 Hz foi de 3,004 vezes, comprovando maior distribuição de força nas frequências acima de 2Hz durante o registro.

O padrão de traçado após a aplicação de 70mg/kg de PTZ demonstrou intensa atividade de potencial de campo no córtex motor, com o aumento da amplitude e salva de potenciais duradouros caracterizaram mudanças intensas dos traçados dos registros (fig. 9). O espectrograma demonstrou que a maior concentração de energia durante a salva de potencial está distribuída 1 a 50 Hz, havendo manutenção da energia nas frequências menores Fig. (9.B). As frequências entre 1 a 20 Hz são muito semelhantes a obtida após aplicação do EEFSa. A razão entre as forças distribuídas até 20 Hz se caracterizam por serem mais fortes durante a aplicação do PTZ sendo 1,204 vezes superior a força obtida pela aplicação de EEFSa, mas com padrões semelhantes de distribuição das frequências (Fig. 9. A).



9

Fig. 8. Traçado do registro de potencial de campo após aplicação EEFSa, demonstra alterações de amplitude e momentos de salva de potenciais. (A) histograma demonstra a distribuição de força nas frequências de 1 a 50 Hz; (B) espectrograma demonstra a distribuição de energia durante a latência e salva de potenciais nas frequências de 1 a 50 Hz.

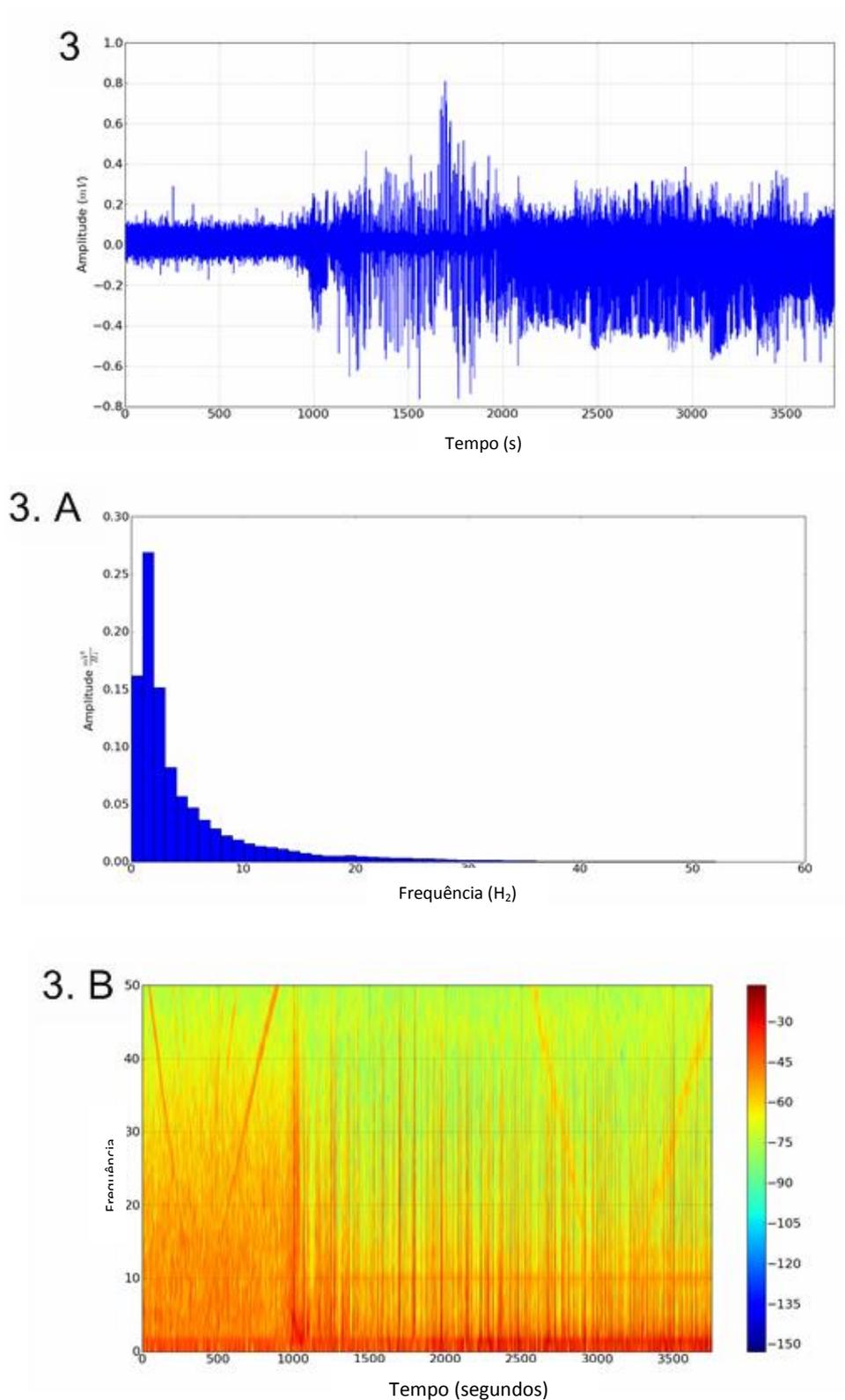


Fig. 9. Traçado do registro de potencial de campo após aplicação de pentilenotetrazol (controle positivo), observar mudança de traçado e salva de potenciais. (A) Histograma demonstra distribuição de força nas frequências entre 1 a 50 Hz, observar o maior distribuição de forças nas frequências 1 e 20 Hz. (B) espectrograma demonstra a distribuição de energia antes e durante a salva de potenciais.

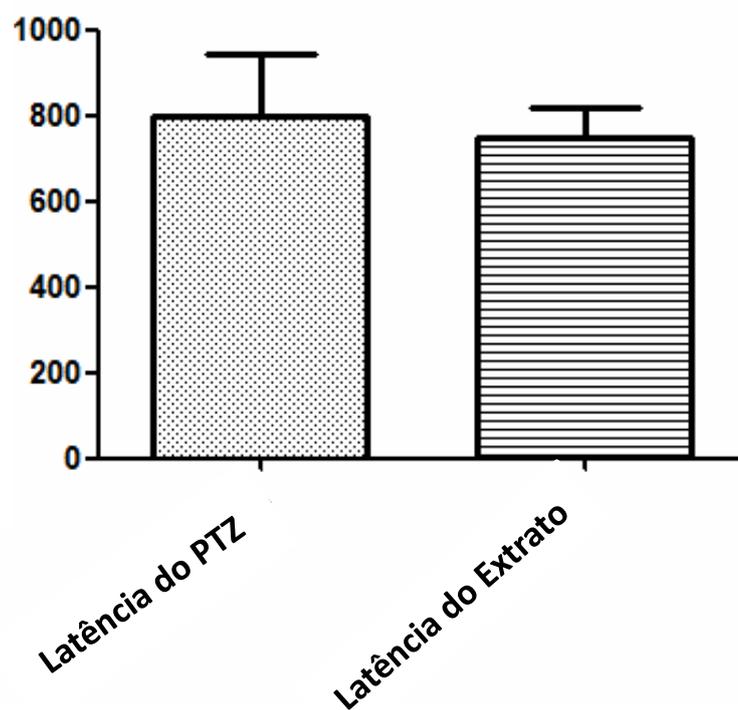


Fig. 10. Latência para o aparecimento das alterações no potencial de campo no registro para grupos tratados com pentilenotetrazol e EEFSa.

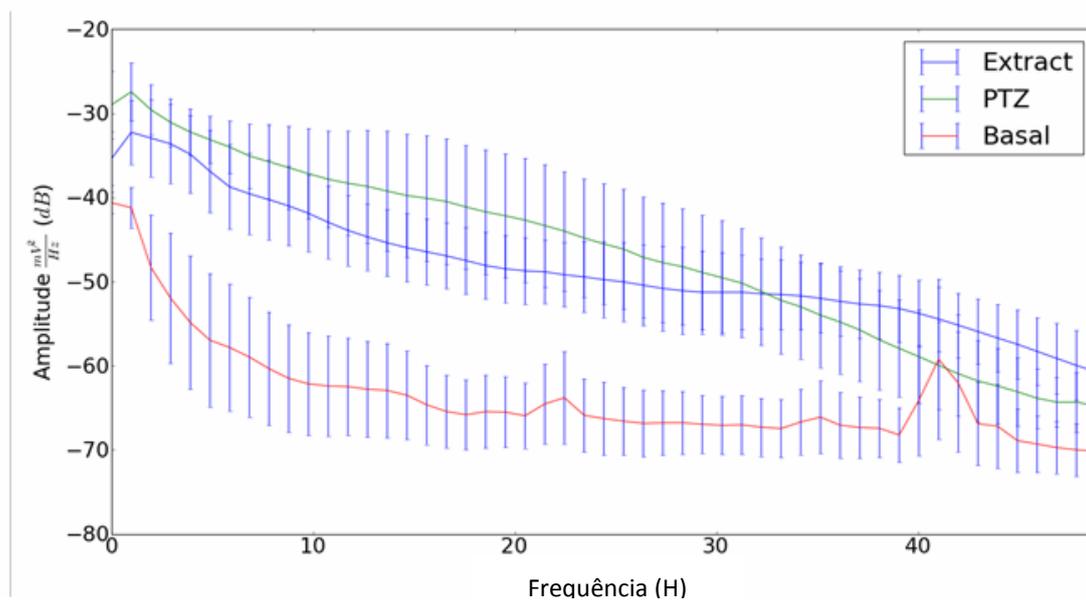


Fig. 11. O gráfico avalia a distribuição de amplitude  $mV^2/Hz$  e frequência até 50 Hz, para o grupo controle negativo (basal), em tratamento com o pentilenotetrazol e em tratamento com o EEFSa.

Após a aplicação do EEFSa, a mudança no traçado dos registros aconteceu em média de 750 ( $\pm 184$ ) segundos e para o pentilenotetrazol foi de 800,3 ( $\pm 348,1$ ) segundos, não existindo diferença estatisticamente significativa, portanto em relação ao início das alterações no registro as drogas apresentam semelhanças (fig. 10). Na figura 11 é observado um gráfico de distribuição de força por frequência, constando que nas médias de potência nas frequências de até 50 Hz não existem diferenças entre os grupos tratados pelo EEFSa e o pentilenotetrazol, de maneira geral após o contato com as substância houve um aumento na média de potência captado pelo eletrodo, em relação ao registro basal. Em relação ao traçado basal as médias de potências nas frequências até 50 Hz em escala linear, foi de 0,0002746 ( $\pm 0,0001813$ )  $mV^2/Hz$ , houve uma diferença significativa em relação ao grupos tratados, PTZ com média de 0,008397 ( $\pm 0,002049$ )  $mV^2/Hz$  e EEFSa 0,004906 ( $\pm 0,003155$ )  $mV^2/Hz$  o que demonstra uma elevação da potência captada pelos eletrodos indicando que há aumento da atividade no sistema nervoso central (fig. 12).

A atividade de manutenção da salva de potencial captado, foi observado tanto para o PTZ onde em média 1089 ( $\pm 639,7$ ) segundos quanto para o EEFSa com média de 1252 ( $\pm 641$ ) não havendo diferenças estatísticas entre os grupos (fig. 13).

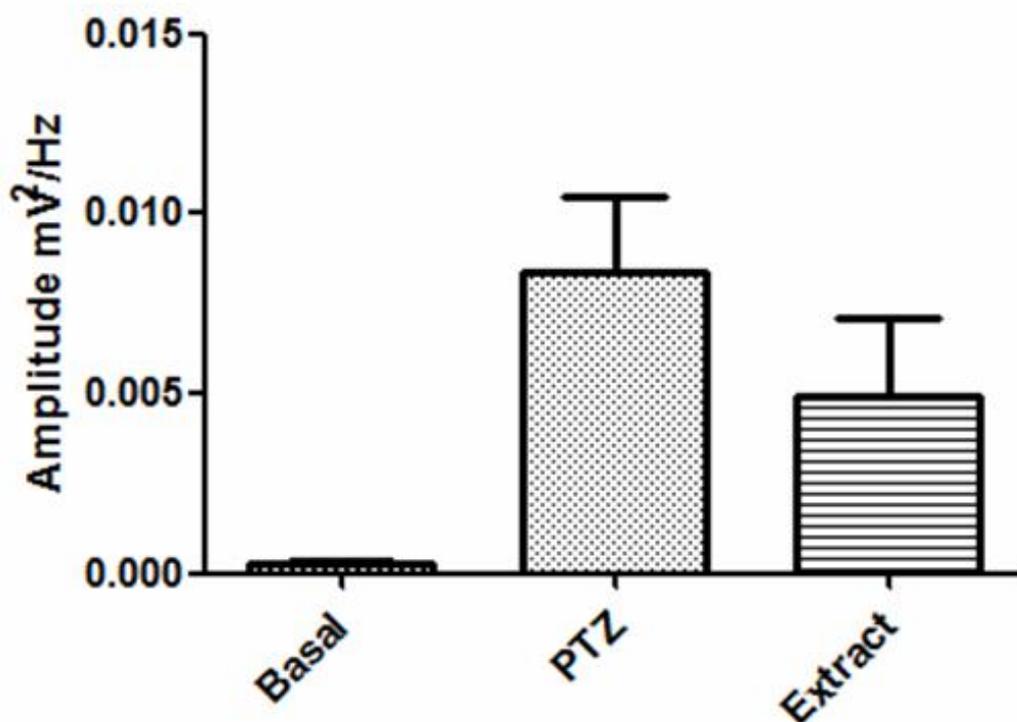


Fig. 12. Demonstra as médias de amplitude  $mV^2/Hz$  e a diferença de atividade de potencial de campo entre os grupos tratados nas frequências até 50 Hz\*  $P < 0,05$ .

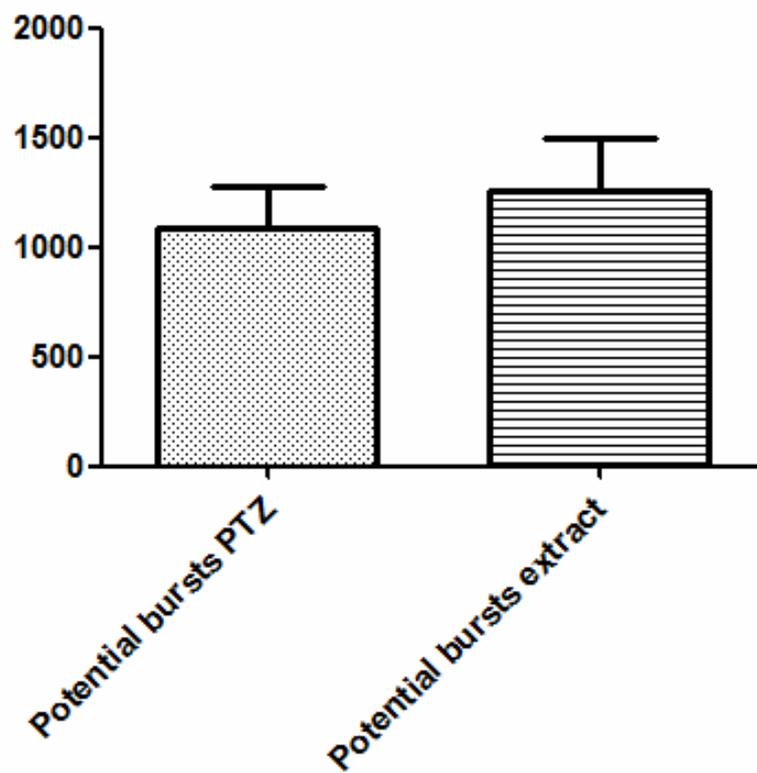


Fig. 13. Mostra a duração das salvas de potenciais em segundos e relaciona os grupos tratados com pentilenotetrazol e EEFSa.

## 7. DISCUSSÃO

Sabe-se que as plantas apresentam inúmeras propriedades que podem vir a serem utilizadas tanto para auxiliar no tratamento de patologias, quanto para desencadeá-las. Plantas medicinais foram os primeiros recursos terapêuticos a serem utilizados para o cuidado da saúde dos seres humanos e de sua família, ora como remédio, ora como alimento (BADKE, 2008, p.20). De acordo com estudos realizados por Silva e colaboradores (2010), o homem primitivo ingeriam plantas para garantir sua sobrevivência e assim era possível identificar, sem o conhecimento científico, se se tratava de uma planta medicinal, veneno, alucinógeno ou alimento.

Segundo estudo realizado por Costa & Almeida, (2014), acidentes com plantas tóxicas atingem principalmente crianças, anualmente uma quantidade significativa do orçamento de hospitais tem se destinado ao tratamento de intoxicações por vegetais de uso doméstico. Vale ressaltar que qualquer substância química dependendo de sua dosagem pode vir a ser tóxico ao organismo, ocasionando uma cascata de reações fisiológicas que podem levar o indivíduo a óbito, caso a intervenção correta não ocorra em tempo hábil.

No que diz respeito a crises convulsivas, este fato também é aplicável. Diversas substâncias de origem vegetal possuem atividades pro convulsivantes, como o extrato hexânico de *Clibadium sylvestre*, que contém potencial convulsivante representado pelos componentes acetato de cunaniol e cunaniol (HAMOY, 2011), como o alcaloide da *Stricnuden nux vomica*, que tem como ação o bloqueio dos receptores do neurotransmissor inibitório a nível central, produzindo convulsões reflexas, do tipo tônico-clônicas e simétricas (MELO et al., 2002). *Nerium oleander*, planta comumente utilizada em ornamentação foi descrita por Aslani et al. (2004) como capaz de provocar vocalização, convulsões e tremores musculares em ovinos. Além destes, tem-se conhecimento do extrato das raízes da hortaliça *Spilantes acmella*, outra representante com propriedades convulsivantes.

*Spilantes acmella* é uma hortaliça amplamente distribuída na região Norte do Brasil, conhecida popularmente como jambu. Faz parte da culinária paraense, bem como da medicina popular. Recentemente, vem sendo utilizada na composição de cosméticos e estudada devido as propriedades de seus metabolitos secundários, sendo o mais expressivo deles o espilantol.

O primeiro trabalho a abordar as propriedades convulsivante da *Spilantes acmella* em camundongos foi realizado em 1989, por Moreira et al, onde este conclui que a latência para o aparecimento da primeira crise clônica generalizada e crise tônica seguida de morte do animal foi rápida e de curta duração, quando injetados em doses de 50 a 150 ml/KG por via i.c.

Partindo deste pressuposto, foi realizado a coleta do extrato etanólico das flores de *Spilantes acmella*, a fim de testá-lo por meio de aplicação de 1000 mg/kg por via intraperitoneal em ratos wistar para verificar através de análise EEG se este também apresenta o mesmo comportamento, atingindo o sistema nervoso central a ponto de causar alta

excitabilidade neural levando ao aparecimento dos padrões em EEG das crises de convulsão. Isto foi feito para comprovar se este atende aos requisitos básicos para se tornar um bom modelo experimental em convulsão.

Para ser considerado um bom modelo experimental para a epilepsia, dois requisitos são necessários, primariamente o modelo deve apresentar atividade epileptiforme nos registros eletroencefalográficos, segundo, deve apresentar clinicamente atividade semelhante a uma crise epilética (QUINTANS et al., 2007).

O extrato etanólico das flores de *Spilanthes acmella* demonstrou ter ação no sistema nervoso central do rato, levando a alterações na atividade cerebral do mesmo, o que pode ser observado através da mudança de amplitudes e das frequências obtidas no EEG. Inicialmente após a aplicação do extrato, observam-se ondas cerebrais que saem do padrão basal e passam a apresentar ritmos de grande atividade cerebral, típicos de estados de grande excitabilidade cerebral, semelhantes às crises convulsivas, primeiramente com ritmos gama e posteriormente, ritmos beta.

No espectrograma referente a frequência (fig. 7C), o espectrograma do eletroencefalograma basal (fig.7) demonstra prevalência de frequências em torno de 5 Hz, sendo as frequências do tipo onda teta as presentes, as quais sinalizam baixa atividade cerebral, com córtex em estado relaxado. Já no espectrograma do animal tratado com EEFSa, como pode ser observado na figura 8, há presença de grande alteração nas frequências das ondas cerebrais, com frequências de até 50 Hz.

Quando comparados os resultados obtidos, o espectrograma do animal tratado com o EEFSa apresenta maior ritmo de atividade cortical que o basal, ocorrendo prevalência de ondas cerebrais do tipo gama, sendo esta a de maior atividade cerebral e grande excitação e, posteriormente, de ondas do tipo beta, entre 14 e 30 Hz, estando de acordo com o estado de excitação e rápida atividade cerebral. O que demonstra que o cérebro adquiriu característica no eletroencefalograma, semelhantes ao observado durante estados de crises convulsivas.

Quando comparamos as leituras dos três grupos utilizados no presente trabalho (Figura 11), é possível verificar no gráfico de distribuição de força por frequência, que entre o grupo testado com EEFSa por via intraperitoneal e o grupo controle, onde foi aplicado por via intraperitoneal o pentilenotetrazol, não apresentam diferença significativa de potência nas frequências de até 50 Hz, demonstrando comportamento similar e comprovando que o EEFSa agiu sobre o Sistema Nervoso Central modificando a frequência captada pelo eletrodo em comparação com o registro basal, onde a diferença entre os dois grupos tratados e o basal é significativa.

Estes dados corroboram com os estudos que ligam a *Spilanthes acmella* às crises de convulsão, demonstrando que esta hortaliça apresenta caráter tóxico dependente de dosagem capaz de se caracterizar similarmente ao que é observado no EEG quando emprega-se a substância pentilenotetrazol.

## 8. CONCLUSÃO

A epilepsia por ser uma doença que ainda apresenta algumas lacunas a cerca de seu entendimento, e por não apresentar 100% de resultados satisfatórios com relação aos tratamentos hoje utilizados, sendo ainda considerada uma patologia complexa, traz a necessidade ao meio científico em buscar desenvolver novas formas de compreender o mecanismo pelo qual esta doença se dá bem como modelos que auxiliem nos testes de novos fármacos a serem inseridos no tratamento.

Este trabalho mostrou que o extrato etanólico de *Spilanthes acmella* possui efeito convulsivante sobre ratos wistar, levando a alterações eletroencefalográficas compatíveis com as apresentadas pelo modelo experimental utilizando a substancia pentilenotetrazol. O efeito esperado é dependente de dosagem, apresentando-se em curto período de tempo após a aplicação do EEFSa. O que comprova os achados a certa de seu potencial em alterar o sistema nervoso levando a sua excitação e tendo como consequência o surgimento da convulsão como sintoma clínico.

Estes resultados demonstram o potencial que o EEFSa possui para se tornar um futuro modelo experimental em convulsão, podendo contribuir com os avanços nas pesquisas acerca da Epilepsia.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI, F. et al. Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (Asteraceae) do sul do Brasil. **Rev. bras. farmacogn.** Vol.15. no.3, João Pessoa, 2005.

AKBAS S.H; YEGIN A; OZBEN T. Effect of pentylenetetrazol-induced epileptic seizure on the antioxidant enzyme activities, glutathione and lipid peroxidation levels in rat erythrocytes and liver tissues. **Clinical Biochemistry** 38:1009–1014. 2005.

ANDRESEN, M.L., VELLE, A. C., TIMO-IARA, C., TUFIK, S. Implantação de eletrodos para estudo eletrofisiológico de ciclo vigília-sono do raro. São Paulo, **UNIFESP-Universidade Federal de São Paulo**, 2001.

ARANDAS, F.S.; SENA, E.P. Drogas Epiléticas. In: SILVA, Penildon. **Farmacologia. 7. ed.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap.43, p.416-422.

ASLANI, M. R.; et al. Clinical and pathological aspects of experimental oleander (*Nerium oleander*) toxicosis in sheep. **Veterinary Research Communications** v.28, n.7, p. 609-616. 2004.

BEAR, M.F. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso.** 3 Ed. Porto Alegre. Artmed, 896 p. Cap. 19. 2008.

BADKE, M.R. Conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais e o cuidado de Enfermagem. Dissertação de Mestrado (Pós-Graduação em Enfermagem). Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Maria, RS. 2008.

BORGES-DEL-CASTILLO J.; VAZQUEZ-BUENO P.; SECUNDINO-LUCAS M.; MARTINEZ-MARTIR A.I.; JOSEPH-NATHAN P. The N-2-phenylethylcinnamide from *Spilanthes ocyimifolia*. **Phytochemistry**, v.23, p.2671-2672, 1984.

BORGES, L.S. Biomassa, teores de nutrientes, espilantol e atividade antioxidante em plantas de jambu (*Acmella ciliata* Kunth) sob adubações mineral e orgânica. 2009. 108 f. Dissertação (Mestrado Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2009.

BLUME W.T, LUDERS H.O, MIZRAHI E, et al. Commission Report. Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*, 42(9):1212-8, 2001.

BRANDÃO, H. N. et al. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, v.33, n.6, p.1359-1369, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de ciência Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: **Ministério da Saúde**, 2006. 148 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde). Disponível em <http://www.saude.gov.br/bvs>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política Nacional de plantas medicinais e fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: **Ministério da Saúde**, 2006. 60 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde). Disponível em <http://www.saude.gov.br/bvs>.

BRINGEL, J.R, J.B.A. A tribo Heliantheae Cassini (Asteraceae) na bacia do rio Paranã (GO, TO). 2007. 152 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Botânica), Universidade de Brasília, Brasília. 2007.

BRITO, V.B., et al. Diphenyl diselenide and 2,3-dimercaptopropanol increase the PTz-induced chemical seizure and mortality in mice. **Brain Res Bull.** 68, 414-8. 2006.

BRUM L.F.S; ELISABETSKY E. Antiepileptogenic properties of phenobarbital: behavior and neurochemical analysis. **Pharmacology Biochemistry & Behavior** 67:411-41. 2000.

BRUNO, A.N. Efeitos de crises crônicas e agudas induzidas por pentilenotetrazol sobre a hidrólise de nucleotídeos púricos em soro de ratos adultos. Dissertação de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Bioquímicas. Porto Alegre, 2002.

CAVALCANTI, V. M. S. Extração de espilantol de *Spilanthes acmella* var. *oleracea* com dióxido de carbono supercítico. 165f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

CARDOSO, M. O. (Coord.). Hortaliças não convencionais da Amazônia. Brasília, DF: EMBRAPA–SPI: **Manaus Embrapa-CPAA**, 1997. 150 p.

CARDOSO, M.O.; GARCIA, L.C. Jambu (*Spilanthes oleracea* L.). In: CARDOSO, M.O. (Coord.) Hortaliças não convencionais da Amazônia. Ed. EMBRAPA-SPI, **Brasília & EMBRAPA-CPAA**, Manaus, p.136-139, 1997.

CASELLA, E.B.; MÂNGIA, C.M.F. Abordagem da crise convulsiva aguda e estado de mal epiléptico em crianças. **Jornal de Pediatria** - Vol. 75, Supl.2. 1999.

CHAKRABORTY, A.; DEVI, R. K. B.; RITA, S.; SHARATCHANDRA, K.; SINGHT, T. I. Preliminary studies on antiinflammatory and analgesic activities of *Spilanthes acmella* in experimental animal models. *Indian J. Pharmacology*, n46, p. 148-150, 2004.

Commission on Classification and Terminology of the International League against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. **Epilepsia** 1989;30: 389-99.

CORDÁS, T.A., MORENO, R.A. Condutas em psiquiatria. São Paulo. **Editora Lemos**, 4 edição, 2001, 349 p.

COSTA, A.R. et al. EPILEPSIA E OS FÁRMACOS MAIS UTILIZADOS NO SEU TRATAMENTO. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v.5, n.3, Pub.4, Julho 2012.

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

COSTA, T.O; ALMEIDA, O.S. O conhecimento popular e o risco de intoxicação por ervas medicinais. **Revista Digital**. Buenos Aires – Ano 19, n.194, julho de 20114. Disponível em: < <http://www.efdeportes.com/> >. Acesso em: 28 de janeiro de 2017.

CRAVEIRO A.A, FERNANDES A.G, ANDRADE C.H.S, MATOS F.J.A, ALENCAR J.W.D, MACHADO M.I.L 1981. *Óleos essenciais de plantas do nordeste*. Fortaleza: **UFC**.

DELAMÓNICA E.A. O eletroencefalograma no adulto: Princípios gerais e aplicação clínica. In: Pinto, L. C. **Neurofisiologia clínica: princípios básicos e aplicações**. 2 ed. São Paulo: Ed Atheneu, 2010.

DUBEY, S. & col. Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology of *Spilanthes acmella*: A Review. **Hindawi Publishing Corporation Advances in Pharmacological Sciences** Volume 2013, 9 pages.

DHIR A; NAIDU OS; KULKARNI SK. Effect of naproxen, a nonselective cyclooxygenase inhibitor, on pentylentetrazole induced kindling in mice. **Clinical Experimental Pharmacology & Physiology** 32:579-584. 2005.

FAVORETO, R.; GILBERT, B. *Acmella oleracea* (L.) **R. K. Jansen (Asteraceae) – Jambu**. Revista Fitos. Estudo da Arte. Rio de Janeiro. Vol.5 N°01 Março 2010.

FABRY W.; OKEMO P. O.; ANSONG R. Fungistatic and fungicidal activity of east African medicinal plants. **Mycoses**, v.39, p.67-70, 1996.

FERANDO, I., MODY, I. GABA<sub>A</sub> receptor modulation by neurosteroids in models of temporal lobe epilepsies. **Epilepsia**. 53 Suppl 9, 89-101. 2012.

FERREIRA, I.J.M., SILVA, T.P.T. Mortalidade por epilepsia no Brasil de 1980 a 2003. **Ciências & Saúde Coletiva**, 14 (1): 89-94, 2007.

FUNCHAL, Cláudia da Silva; DANI, Caroline. **Neurociências: modelos experimentais em animais**. Porto Alegre: **EdiPUCRS**, Editora Universitária Metodista, 2014.

GALLUCCI, J.N; MARCHETTI, R.L. Aspectos Epidemiológicos e Relevância dos Transtornos Mentais Associados á Epilepsia. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. São Paulo, vol. 27, n.4, p.323-328. Março. 2005. Disponível em: Acesso em: 03 de Junho de 2011.

GARCIA, R.P.D.; TSURUTA, M.M. Eletroencefalograma de ratos nefropatas após exposição ao suco de carambola. CONIC.SEMESP. **14 Congresso Nacional de Iniciação Científica**.

GUSMAO, S.A.L. et al. Caracterização do cultivo de jambu nas áreas produtoras que abastecem a grande Belém. Marituba, PA. 4p.

GUZMÁN DC; VAZQUEZ IE; MEJÍA GB; GARCIA EH; ANGEL DS; OLGUÍN HJ. Effect of pentylenetetrazole and carbodiimide on oxidation stress markers in rat brain. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology** 96:512–513. 2005.

GREGER, H. Alkamides: Structural relationships, distribution and biological activity. **Planta Medica**, p. 366-375, 1984.

HAMOY, M. Caracterização comportamental e eletroencefalográfico das Convulsões induzidas pelo cunaniol e acetato de cunaniol extraído das folhas de *Clibadium sylvestre*, um modelo de convulsão generalizada experimental em Ratos (wistar). Tese de Doutorado. Belém. Universidade Federal do Pará, 2011. 131p.

HAYATA, B. Compositae Formosanae. Journal of the College of Science. **Imperial University of Tokyo**, v.18, p.1-45, 1904.

HIND, N.; BIGGS, N. *Acmella oleracea*: Compositae. **Curtis's Botanical Magazine**, v.20, n.1, p.31-39, 2003.

HOMMA, A.K.O. et al. Etinocultivo do jambu para abastecimento da cidade de Belém, Estado do Pará. **Amazônia: Ci. & Desenv.** Belém, v. 6, n. 12, jan./jun. 2011.

ILHAN, A., Iraz, M., Gurel, A., Armutec, F., Akyol, O., 2004. Caffeic Acid Phenethyl Ester Exerts a Neuroprotective Effect on CNS Against Pentylentetrazol-Induced Seizures in Mice. **Neurochem. Res.** 29, 12, 2287–2292.

JACOBSON, M. The structure of spilanthol. **Chemistry and Industry**, n.2, p.50-51, 1957.

JANSEN, R.K. Systematics of *Spilanthes* (Compositae: Heliantheae). **Systematic Botany**, v.6, p.231-257, 1981.

JANSEN, R.K. The systematics of *Acmella* (Asteraceae-Heliantheae). **Systematic Botany Monographs**, v.8, p.1-115, 1985.

JOHN, L. Tucupi, tacacá e tá na cara. Blog Planeta Sustentável, jun de 2011. Disponível em: <http://planetasustentavel.abril.com.br/blog/biodversa/> . Acesso em: 29 de janeiro de 2017.

KITAMURA, S. An enumeration of Compositae. V. **Acta Phytotaxonomica Geobotanica**, v.10, p.15-37, 1941.

KRISHNASWAMY, N.R.; PRASANNA, S.; SESHADRI, T. R.; VEDANTHAM, T. N. C. alpha- and beta-Amyrin esters and sitosterol glucoside from *Spilanthes acmella*. **Phytochemistry**, v.14, p.1666-1667, 1975.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas. **Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda**, Nova Odessa, 2002, 512 pp.

LÖSCHER W; SCHMIDT D. New horizons in the development of antiepileptic drug. **Epilepsy Research** 50:3-16. 2002.

LUKOMSKAYA N.Y. et al. Effects os inotropic glutamate receptors channel blockers on the development of pentylenetetrazol kindling in mice. **Neuroscience & Behavioral Physiology** 37:75-81. 2007.

MADEJA, M. et al. Mechanism of action of epileptogenic drug pentylenetetrazol on a cloned neuronal potassium channel, **Brain Res.** 722: 59-70, 1996.

MARESCAU, C., MICHELETTI, G., VERGNES, M., DEPAULIS, A., RUMBACH, L., WARTER, J.M. A odel of chronic spontaneous pentit mal-like seizures in the rat: comparison with pentylenetetrazol-induced seizures. **Epilepsia**, 25 (3): 326-331, 1984.

M.D., Paul Rutecki. **Convulsões e Epilepsia**. In: ROLAK, Loren A. Segredos em Neurologia. 2. ed., Porto Alegre: Artmed, 2001, Cap. 21, p.331- 349.

MELO, M.M., OLIVEIRA, N.J.F., LAGO, L.A. Intoxications caused by pesticides in dogs and cats part II: Amitraz, Strichnine, Sodium Fluoroacetate and Fluoroacetate, anticoagulant rodenticides and Avermectins. **Continuous Education Journal CRMV-SP**, 5: 259-267, 2002.

MILITÃO, G.C.G. Potencial antitumoral de flavonoides isolados de plantas do nordeste brasileiro: estudos preliminares da relação estrutura-atividadee citotóxica. 2005. Dissertação (Mestrado em farmacologia) UFC, Fortaleza-Ce. 2005.

MOORE, A.H. Revision of the Genus Spilanthes. **Proceedings of the American Academy os Arts and Sciences**, v.42, n.20, p.521-569, 1907.

MOLINA-TORRES, J.; CHAVEZ, A. G.; CHAVEZ, E. R. Antimicrobial properties of alkaloids present in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: affinin and capsaicin. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 64, p. 241 – 248, 1999.

MORAES, L. G.; ALONSO, A. M.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Plantas medicinais no tratamento do câncer: uma breve revisão de literatura. *Universitas: Ciências da Saúde*, v. 9, n. 1, p. 77 - 99, 2011.

MOREIRA, V. M. T.S. et al. Atividade farmacológica do jambu do Pará. *Ciência e Cultura*, v. 39, p. 801, 1987.

MOREIRA, V.M., MAIA, J.G, de SOUZA, J. M., BORTOLOTO, Z. A., CAVALHEIRO, E.A. Characterization of convulsions induced by a hexanic extract of *Spilanthes acmella* var. *oleracea* in rats. **Brazilian J. Med. Biol. Research**, 22 (1): 65-67, 1989.

MOREIRA F.P.M, COUTINHO V, MONTANHER A.B.P, CARO M.S.B, BRINHETE I.M.C, PIZZOLATTI M.G 2003. Flavonóides e triterpenos de *Baccharis pseudotenuifolia* - Bioatividade sobre *Artemisia salina*. **Quím. Nova** 26: 309-311.

MOREIRA, S.R.G. Epilepsia: concepção histórica, aspectos conceituais, diagnóstico e tratamento. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**. Barbacena, vol. 2, n. 3, p.1-12. Novembro. 2004. Disponível em:< <http://www.scielo.br> > Acesso em: 27 de janeiro de 2017.

NAKATANI, N.; NAGASHIMA, M. Pungent alkaloids from *Spilanthes acmella* L. Var. *oleracea* Clarke. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 56, n.5, p. 759- 762, 1992.

NASCIMENTO, A.M. Polissacarídeos e metabólitos secundários de *Spilanthes oleracea* L. (jambu). Dissertação de Mestrado. Curitiba, 2012.

NETO, Jose Gallucci; MARCHETTI, Renato Luiz. Aspectos Epidemiológicos e Relevância dos Transtornos Mentais Associados á Epilepsia. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. São Paulo, vol. 27, n.4, p.323-328.

OLIVEIRA F.A; ALMEIDA R.N; SOUZA M.F.V; BARBOSA-FILHO J.M; DINIZ S.A; MEDEIROS I.A. Anticonvulsivant properties of N-salicylotryptamine in mice. **Pharmacology Biochemistry & Behavior** 68:199-202. 2001.

OLIVEIRA, A.P., et al. Vectors of gamma-decanolactone on seizures induced by PTZ-kindling in mice. *Exp. Brain Res.* 187:161–166. 2008.

PAVLOVA, T., STEPANICHEV, M., GULYAEVA, N., 2006. Pentylentetrazole Kindling neuronal cyclin B1 Expression in rat hippocampus. **Neurosci. Lett** 392:154-158.

PANDEY, V.; AGRAWAL, V.; RAGHAVENDRA, K.; DASH, A.P. Strong larvicidal activity of three species of *Spilanthes* (Akarkara) against malaria (*Anopheles stephensi* Liston, *Anopheles culicifacies*, species C) and filaria vector (*Culex quinquefasciatus* Say). **Parasitology Research**, v.102, p.171-174, 2007.

PEDLEY, Timothy A.; BAZIL, Carl W.; MORRELL, Martha J. Epilepsia. In: M.D., Lewis P. Rowland. *Merritt Tratado de Neurologia*. 10. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap. 140, p.705-722.

PRASAD, M.M.; SEENAYYA, G. Effects of spices on growth of red halophilic cocci isolated from salt cured fish and solar salt. **Food Research International**, v.33, p.793-798, 2000.

QUINTANS, L.J.Jr, LIMA, J. T., ALMEIDA, J.R.G.S., BERDOR, C.N.G., JUNIOR, R.G.S. Modelos animais para avaliação de drogas anticonvulsivantes: uma revisão. **Revista Bras. Farm.**, 88 (4): 163-166, 2007.

RAMSEWAK, R.S.; ERICKSON, A.J.; NAIR, M.G. Bioactive Nisobutylamides from the flower buds of *Spilanthes acmella*). **Phytochemistry**, v.51, p.729-732, 1999.

RATNASOORIYA, W. D, PIERIS, K. P. P., SAMARATUNGA, U., JAYAKODY, J. R. A. C. Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.91, n.2-3, p.317-320, 2004.

RAMANJANEYULU, R., TICKU, M.K. Interactions of pentamethylenetetrazole and tetrazole analogues with the picrotoxinin site of the benzodiazepine-GABA receptor-ionophore complex. **Eur J Pharmacol.** 98, 337-45. 1984.

RANG, H. P; DALE, M. M. Fármacos Antiepiléticos. In:. Farmacologia. 6. ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2007. Cap. 40, p.575-587.

RANZI, A. O jambu é nosso! 2005. Disponível em :<<http://www.biopirataria.org/index.php>>. Acesso em : 28 de dezembro de 2016.

REVILLA, J. Plantas da Amazônia: Oportunidades Econômicas Sustentáveis. **Ed. INPA**, Manaus, 2001, 405pp.

RIBEIRO, L. C. Investigação do efeito ictiotóxico do extrato etanólico da raiz de *Spilanthes acmella* (JAMBU) em Zebrafish através da análise eletrofisiológica e comportamental. Dissertação de Mestrado no Programa de Pós-graduação Neurociências, Universidade Federal do Pará., 2013.

SANTOS, Daniele Silva dos, 2010. Desenvolvimento de método por CLAE-DAD para determinação de epilantol em *Spilanthesacmella*(L.) Murray, 2010.

SARAF, D.K. e DIXIT, V.K. *Spilanthes acmella* Murr: study on its extract spilanthal as larvicidal compound Asian J. **Exp. Sci.**, 16, 9-19, 2002.

SIQUEIRA, R.M.P. Avaliação do efeito neuroprotetor da pentoxifilina em modelos de convulsão induzidos por pilocarpina e pentilenotetrazol em ratos. Dissertação de Pós-Graduação em Farmacologia. Ceará. 2011.

SILVA, M.A.; BARBOSA, J.S.; ALBUQUERQUE, H.N. Levantamento flogisco das plantas espontâneas e suas potencialidades fitoterapêuticas: um estudo no Complexo Aluísio Campos – Campina Grande – PB. **Revista Brasileira de Informações Científica**. Volume 1/ Número 1/ Maio – 2010.

SILVA, C.A.P. Fracionamento biomonitorado pela atividade citotóxica do extrato hidroalcoólico de *Acmella oleracea*. Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas. São José dos Campos, SP. 2015.

SIMÕES, C. M. O.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5.ed. Porto Alegre, UFRGS, Florianópolis, **UFSC**, 2003. p. 403, 498.

SHORVON, S. D. Drug treatment pf epilepsy in the century of the ILAE: the second 50 years, 1959-2009. **Epilepsia** 50 Suppl 3: 93-130. 2009.

SOUZA V. C.; LORENZI H. Botânica Sistemática - Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. **Plantarum**, Nova Odessa, 2005.

VILLACHICA, H.; CARVALHO, J. E. U.; MULLER, C. H.; DIAZ, S. C.; ALMANZA, M. Frutales y hortalizas promissórios de la Amazônia. Lima: TCA; Secretaria Protempore, p. 322- 327, 1996.

VULPI, T. S.; MORAIS, C. P. M.; TRINDADE, A. P. F.; LIMA, M. C. H. P.; VELOZO, L. S. M. KAPLAN, M. A. Análise do óleo essencial dos diferentes órgãos de *Acmella ciliata Kunth* (Asteraceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 1128 - 1130, 2007.

WU, L.; FAN, N.; LIN, M.; CHU, I.; HUANG, S.; HU, C.; HAN, S. A.; Anti-inflammatory effect of spilanthol from *Spilanthes acmella* on murine macrophage by downregulating LPS-induced inflammatory mediators. J. agric. **Food Chem.** v. 56, p. 2341 – 2349, 2008.

YACUBIAN, E.M.T. Proposta de Classificação das Crises e Síndromes Epilépticas. Correlação Videoeletrencefalográfica. **Rev. Neurociências** 10(2): 49-65, 2002.