



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE ODONTOLOGIA

THAÍS MALHEIROS CHAVES

**AVALIAÇÃO DO PERFIL PSICOFARMACOLÓGICO
DE *Indigofera suffruticosa* MILL EM ROEDORES: ANÁLISE DE SUA AÇÃO
ANSIOLÍTICA E ANTICONVULSIVANTE**

PROJETO DE PESQUISA

MESTRADO

Recife

2008

THAÍS MALHEIROS CHAVES

AVALIAÇÃO DO PERFIL PSICOFARMACOLÓGICO

**DE *Indigofera suffruticosa* MILL EM ROEDORES: ANÁLISE DE SUA AÇÃO
ANSIOLÍTICA E ANTICONVULSIVANTE**

**Projeto de pesquisa destinado à
elaboração da dissertação do Curso de
Mestrado em Odontologia com área de
concentração em Clínica Integrada da
Universidade Federal de Pernambuco.**

Orientador: Prof. Dr. Edvaldo Rodrigues Almeida.

Co-orientador: Prof. Dr. Geraldo Bosco Lindoso Couto.

Recife

2008

1. DENOMINAÇÃO

Universidade

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE

Faculdade

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Curso

MESTRADO EM ODONTOLOGIA

2. ENDEREÇO

RUA AGRICOLÂNDIA, nº. 265, VÁRZEA, RECIFE - PERNAMBUCO, TEL.
34530164 / 88853070

3. AUTOR/ORIENTADOR

Nome:

THAÍS MALHEIROS CHAVES

Nome:

EDVALDO RODRIGUES ALMEIDA

4. LINHA DA PESQUISA

AVALIAÇÃO DE PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS NO
SISTEMA NERVOSO CENTRAL E SUA TOXICOLOGIA.

5. TÍTULO DA PESQUISA

AVALIAÇÃO DO PERFIL PSICOFARMACOLÓGICO DE *Indigofera
suffruticosa* MILL em roedores: ANÁLISE DE SUA AÇÃO ANSIOLÍTICA E
ANTICONVULSIVANTE.

6. INTRODUÇÃO

Vários estudos farmacológicos têm demonstrado a ação de extratos vegetais em diversas patologias induzidas experimentalmente em animais de laboratório. Isso tem aberto perspectivas favoráveis no sentido de se ter nas plantas uma grande fonte de substâncias, que num futuro próximo, poderão ter emprego na terapêutica convencional (alopatia), através do isolamento e identificação de princípios ativos, para os mais variados males que afligem o homem (CASTRO; FERREIRA, 2001).

O uso de plantas como agentes terapêuticos vêm sendo muito intensos principalmente devido aos efeitos colaterais de grande parte dos produtos alopáticos existentes. Em geral, a população tem uma tendência a supervalorizar as plantas levando em consideração que as mesmas não produzem efeitos colaterais. No entanto, tal afirmação não reflete a verdade, pois o conhecimento inadequado da dose, da parte da planta empregada e dos compostos existentes no extrato pode acarretar sérios problemas ao indivíduo (ABDULLAH et al., 1990; FEHRI et al., 1991).

Além disso, é sabido que chás preparados a partir de plantas de uso popular podem produzir sérios efeitos adversos em animais e em seres humanos. Esses e outros aspectos motivaram a intensificação de pesquisas com plantas usadas na medicina popular principalmente visando esclarecer os possíveis efeitos tóxicos e histopatológicos, como também utilizá-las “*in natura*” para as várias patologias e atividades relacionadas com o Sistema Nervoso Central (SNC), dentre elas a analgesia, o efeito ansiolítico e a atividade anticonvulsivante (HUXTABLE, 1980; SCHOENTAL, 1982).

Indigofera suffruticosa Mill (Fabaceae), comum em regiões tropicais e subtropicais, é uma leguminosa utilizada na adubação verde e cobertura dos solos. Essa fogarreira anual ou perene é adaptada à região do semi-árido e agreste do estado de Pernambuco. A planta é considerada como tintória; as raízes e folhas têm atividade atiespasmódicas, sedativas e diurética (BRAGA, 1985).

Dessa forma, é de extrema importância a identificação do perfil psicofarmacológico, como também, de novas informações através do extrato hidroalcoólico das raízes de *Indigofera suffruticosa*, para que se possa comprovar suas ações e seus efeitos colateral-adversos, obtidos através da etnofarmacologia, proporcionando desta forma o seu futuro como um fitoterápico.

7. REVISÃO DE LITERATURA

As plantas são, indiscutivelmente, fonte de substâncias bioativas sendo atualmente bastante utilizadas pelas populações de vários países, inclusive o Brasil, o qual tem rendido uma inacreditável gama de produtos vegetais e animais, chamando a atenção de farmacologistas no mundo inteiro (SALATINO et al, 2005).

Recentemente, muita atenção tem sido direcionada para extratos e compostos biologicamente ativos isolados de espécies de plantas populares. O uso de plantas medicinais possui vital importância na atenção básica de saúde dos países desenvolvidos e podem oferecer uma nova fonte de agentes antibacterianos, antifúngicos e antivirais com significativa atividade contra microorganismos infecciosos. Conhecida popularmente como “anil do campo” ou “anileira”, *Indigofera suffruticosa* é encontrada do sudoeste dos Estados Unidos (onde foi introduzida por cultivo em 1742) à Argentina (COELHO de SOUZA et al, 2004; ARNOLD, 2005).

À anileira, são atribuídas muitas propriedades medicinais; segundo Lorenzi (1982), a planta é reputada como antídoto ao arsênico e mercúrio, e sua raiz é odontálgica. Vieira (2006), em estudos fitoquímicos de folhas de *Indigofera suffruticosa*, reportou a presença de alcalóides, flavonóides, esteróides, proteínas, carboidratos e índigo. Leite et al (2002), demonstrou atividade lectínica em extratos de folhas, caules e sementes de *I. suffruticosa*; enquanto que Kama e Mangla (1993) identificaram, isolaram, e quantificaram seis rotenóides verificando a bioeficácia desta planta contra larvas de *Anopheles* e *Callosobruchus chinensis* adultos.

Roig e Mesa (1974) reportaram que uma das propriedades da *Indigofera suffruticosa* é sua ação antiepiléptica; mais tarde sendo confirmado por Alejo, Miranda e Rodriguez (1996) que através de experimentos em camundongos, mostraram que o

extrato fluido de *Indigofera suffruticosa* na dose de 0,06 g/kg eleva o limiar de crises convulsivas, podendo considerar-se sua atividade antiepilética. Wong et al (1999), utilizando a mesma dose, evidenciou um efeito protetor sobre a diminuição dos aminoácidos inibitórios taurina e glicina e sobre o aumento do aminoácido excitatório ácido glutâmico.

Bautista et al. (1989) estudou os efeitos toxicológicos dos extratos de *Indigofera Suffruticosa* em camungongos e encontrou as doses tóxicas de 5,0g/kg e 7,5g/kg para os extratos hexânicos de folha e fruto respectivamente, sendo as principais alterações observadas a nível hepático e pulmonar.

Vieira (2006) observou a alta efetividade do extrato aquoso de folhas de *Indigofera suffruticosa* na inibição do crescimento de tumores sólidos, resultando em uma alternativa para o tratamento contra o câncer.

Leite et al. (2003) demonstrou ação antiinflamatória do extrato aquoso de folhas de *Indigofera Suffruticosa* em camundongos albinos suíços. Em 2006, foi a vez de comprovar sua ação antifúngica, concluindo que o extrato aquoso obtido por infusão pode ser usado no tratamento de doenças de pele causadas por dermatófitos (LEITE et al, 2006) .

Medeiros et al. (2005) avaliou que extrato aquoso de folhas de *Indigofera Suffruticosa* interfere no desenvolvimento das larvas do *Aedes Aegypti* (durante a mudança de estádios de L3 para L4), possuindo então, ação no controle de mosquito.

8. OBJETIVOS

8.1 Geral

Avaliação do perfil psicofarmacológico do extrato hidroalcoólico das raízes de *Indigofera suffruticosa*.

8.2 Específicos

- A) Avaliar sua possível ação ansiolítica.
- B) Avaliar sua ação anticonvulsivante.

9. MATERIAIS E MÉTODOS

9.1 Materiais

Ração Labina	Termômetro de mercúrio grande
Máscaras descartáveis	Béqueres
Ácido acético glacial	Pinça clínica
Hidrocloridrato de naloxona	Pinça dente de rato
Morfina	Cabo para bisturi n° 3
Solução de cloreto de sódio	Estufa
Caixas de luva para procedimento	Gaiolas
Tween 80	Porta-agulha
Óculos de proteção	Tesoura
Seringa descartável c/ agulha 1ml	Vidros de 20ml
Pentilenotetrazol	Etiquetas adesivas
Diazepam	Toucas descartáveis
Etanol P.A.	Papel toalha
Pentobarbital sódico	Picrotoxina
Fenitoína	

9.2 Métodos

9.2.1 Considerações Éticas

Este projeto foi encaminhado para apreciação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, sob o número de protocolo 23076.006792/2008-11.

9.2.2 Obtenção do extrato hidroalcoólico

Na obtenção do extrato hidroalcoólico, serão utilizados 100g do material seco, previamente triturados em máquina forrageira. O material triturado será colocado em um Becker, e posteriormente será adicionada uma mistura Álcool-água (70:30) até cobrir por completo todo o material, perfazendo um volume final de 800 ml, e em seguida colocado em banho-maria a 80° C durante 1 hora. Cada extrato será deixado em repouso durante 24 horas a temperatura ambiente. A seguir os extratos serão filtrados em filtro de papel e colocados na geladeira. O mesmo processo irá ser repetido durante 24 horas. Em seguida, os extratos serão reunidos e evaporados à vácuo para retirada total do solvente, antes de ser submetido à liofilização. Após processo de liofilização, os resíduos serão colocados em dessecador até peso constante. A seguir, os extratos serão pesados, calculados os seus rendimentos, lacrados cuidadosamente com parafilme e depositados em freezer, até o momento dos testes.

9.2.3 Animais

Nos experimentos *in vivo* serão utilizados 204 camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*), pesando em média 20 - 30g, obtidos do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais estarão sempre sob o controle da temperatura de 23 ± 1 °C, com um ciclo claro/escuro de 12 horas, iniciando-se a fase clara às 06:00 horas da manhã, com livre acesso à água e comida. Todos os experimentos serão realizados entre 09h00min e 16h00min. Os animais serão cuidadosamente monitorados e mantidos de acordo com a recomendação ética do

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e The National Institute of Health Guide for Care and use of Laboratory Animals.

9.2.4 Grupos:

Os animais serão divididos em grupos de 6 camundongos. Em cada avaliação o extrato hidroalcoólico será testado em 3 doses. As 3 doses utilizadas serão determinadas através de valores entre 10 e 40% da DL_{50} , calculados pelo método de Litchfield e Wilcoxon (1949). Os grupos padrão e os grupos controle (salina 0,85% v/v) também serão formados por 6 camundongos cada.

Após os experimentos os animais serão sacrificados com tiopental e encaminhados para o Departamento de Cirurgia Experimental para incineração.

9.2.5 Testes ansiolíticos:

9.2.5.1 Pentobarbital sódico – indutor do sono:

Os grupos teste receberão sua respectiva dose de extrato (i.p.) e o grupo controle receberá salina 0,85%. Após 1 hora, os grupos teste e o grupo controle receberão 55 mg/kg (i.p.) de pentobarbital sódico. Será observado o tempo decorrido entre a perda e o retorno dos reflexos motores, tanto para o grupo controle quanto para os grupos teste (SPERONI e MINGHETTI, 1988).

9.2.5.2 Teste de esconder as esferas:

Nesse teste, verificam-se possíveis alterações comportamentais de drogas que possam promover um perfil ansiogênico ou ansiolítico. Isto é determinado pelo aumento ou diminuição do comportamento de esconder esferas de vidro (“bolas de gude”) que são distribuídas, ao acaso, na superfície da caixa coberta com serragem. O aumento de esferas recobertas é apontado como indicativo de “ansiedade”, já que se supõe representar para o animal o desconhecido, ou seja, um agente estranho cuja presença pode representar ameaça. A administração da droga ansiolítica reduz esse comportamento de recobrir as esferas de vidro (TREIT, PINEL e FIBIGER, 1981; BROEKKAMP et al., 1986; NOGUEIRA, 1997).

Vinte e cinco esferas de vidro transparente (20 mm de diâmetro) serão usadas para cada teste individual. Serão utilizadas gaiolas opacas de plástico liso (30 x 36 x 13cm), com teto de vinil contendo buracos de ar e possuindo em seu interior uma camada de serragem de 5 cm de altura. Os camundongos serão colocados individualmente nas gaiolas de plástico com serragem por 15 minutos (período de habituação) e depois recolocados em suas gaiolas originais. Vinte e cinco esferas de vidro transparente serão colocadas na serragem das gaiolas de habituação. Os grupos teste receberão suas respectivas doses de extrato (i.p.), o grupo controle receberá salina 0,85%, e o grupo padrão receberá diazepam (4 mg/kg i.p.). Os camundongos serão reintroduzidos nessas gaiolas (cada camundongo retornará exatamente para mesma gaiola a que já estava habituado). Depois de 15 minutos, o teste será terminado, o animal será removido e serão contados o número de esferas de vidro que estiverem mais de dois terços cobertas por serragem. Após cada experimentação, a serragem será

substituída e os instrumentos e esferas de vidro serão lavados com água e limpos com álcool (70%) (BROEKKAMP et al, 1986).

9.2.5.3 Teste da placa Perfurada:

É um teste geralmente usado para *screening* de drogas com caráter ansiolítico. Baseia-se na observação de que a atividade de mergulhos (*head dippings*) dos animais é inversamente proporcional ao estado de “ansiedade” dos mesmos. (BOISSER, 1976; FILE e WARDILL, 1976).

Os instrumentos utilizados consistirão numa placa de madeira, 40 cm x 40 cm, com 16 buracos (de 2 cm de diâmetro) espaçados regularmente na superfície. A placa será elevada a uma altura de 50 cm, em um quarto iluminado. Os grupos teste receberão suas respectivas doses de extrato (i.p.), o grupo controle receberá salina 0,85% e o grupo padrão receberá diazepam (4 mg/kg i.p.). Os camundongos serão colocados no centro da placa e será contado o número de vezes que o animal mergulha a cabeça nos buracos e o tempo de permanência nos mesmos num intervalo de 5 minutos (BOSSIER e SIMON, 1962).

9.2.5.4 Teste do labirinto em cruz elevado

Este modelo baseia-se no conhecimento de que ratos e outros roedores evitam locais abertos e elevados. Quando nele confinados, mostram sinais de medo – congelamento, defecação e micção – e aumento do nível plasmático do hormônio de estresse, cortisona (GRAEL e GUIMARÃES, 1999).

O rato explora ambos os braços, abertos e fechados, mas tipicamente entrará com maior frequência e permanecerá por mais tempo nos braços fechados. Uma maior intensidade de “ansiedade” equivale a menor preferência por braços abertos (MORATO e BRANDÃO, 1997).

O teste do labirinto em cruz elevado é uma modificação do instrumento validado por Lister (1987) para camundongos e consiste de dois braços abertos (30 x 5 x 0,25 cm) e dois braços fechados (30 x 5 x 15 cm) originando-se de um centro comum da plataforma (5 x 5 cm). Os dois pares de braços idênticos são opostos um ao outro, formando uma cruz. O aparato inteiro será elevado a uma altura de 40 cm do chão. No começo da sessão o camundongo é colocado no centro da plataforma com a cabeça olhando para o braço aberto, deixando-se que o animal explore por 5 minutos. Seguindo os parâmetros, serão marcados: o tempo gasto e o número de entradas em cada tipo de braço. O grupo padrão receberá diazepam 2,5 mg/kg (i.p.), os grupos teste receberão suas respectivas doses de extrato (i.p.) e o grupo controle receberá salina 0,85%. Após cada experimentação, o aparato será limpo com álcool (70%).

9.2.6 Testes anticonvulsivantes:

9.2.6.1 Pentilenotetrazol – indutor de convulsão:

O pentilenotetrazol é uma das principais substâncias indutoras de convulsão utilizadas na triagem pré-clínica de novos fármacos anticonvulsivantes podendo ser utilizado como modelo de crises generalizadas dos tipos ausência, mioclônicas e de crises tônico-clônicas. O pentilenotetrazol atua inibindo os canais de cloreto associados aos receptores GABA (OLIVEIRA et al., 2001).

O primeiro grupo receberá diazepam 4 mg/kg (i.p.) e servirá como grupo padrão. Os grupos teste receberão o extrato (i.p.) em suas respectivas doses e o grupo controle receberá salina 0,85% . Após 1h, será administrado o Pentilenotetrazol em todos os grupos. Será observado o número de camundongos que apresentarem convulsão tônico-clônica e o tempo de latência até o início da primeira convulsão (GUPTA, MAZUNMDER e CHAKRABARTI S, 1999).

9.2.6.2 Picrotoxina – indutor de convulsão:

É um modelo de epilepsia focal recorrente, para crises do tipo “pequeno mal”, ou crises de ausência. A picrotoxina é um potente estimulante do SNC que atua antagonizando os receptores GABA_A, onde parece haver um sítio de ligação para a picrotoxina (MELLO et al., 1986; ZIA et al., 1995).

Esse método foi descrito previamente por Lehmann et al. (1988). O grupo controle receberá salina 0,85 % e o grupo padrão será tratado com diazepam 4 mg/kg

(i.p.) . Os grupos teste receberão o extrato em suas respectivas doses (i.p.). Depois de 60 minutos, será administrada a Picrotoxina na dose de 8 mg/kg (i.p.) em todos os grupos. Será observado o número de camundongos que apresentarem convulsão tônico-clônica e o tempo de latência até o início da primeira convulsão.

9.2.6.3 Eletrochoque Máximo (EMC)

Este modelo baseia-se na observação de que a estimulação por meio de pulsos elétricos repetitivos usando parâmetros adequados é capaz de induzir, em diferentes estruturas neuronais, um padrão característico de atividade epilética automantida, comumente denominado pós-descarga. O ECM é um modelo bem estabelecido que mimetiza crises convulsivas do tipo generalizadas tônico-clônicas (WHITE, 1997; LÖSCHER e SCHIMIDT, 2002)

O teste de eletrochoque máximo induz convulsão caracterizada pela extensão tônica das extremidades posteriores. Nesse experimento o choque electroconvulsivo (130V, 150 pulsos/s, 0.5 s) será realizado através de eletrodos auriculares. O grupo controle receberá salina 0,85% e o grupo padrão será tratado com fenitoína 25 mg/kg; (i.p.). Os grupos teste receberão o extrato em suas respectivas doses (i.p.). Após 60 minutos, todos os grupos receberão o choque eletroconvulsivo. Serão considerados protegidos os animais que apresentarem abolição da extensão das patas traseiras, ou uma redução destas, medida com um cronômetro em segundos (SWINYARD et al., 1989).

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAH, M., AL-BEKAIRI, ARIF, H. and SHOEB QURESHI. Effect of *Allium sativum* on epididymal spermatozoa, estradiol- treated mice and general toxicity. **Journal of Ethnopharmacology**, **29**: 117-125, 1990.
- ALEJO PJ, MIRANDA R, RODRIGUES G. Actividad Anticonvulsivante (Antiepileptica) del extracto fluido de *Indigofera suffruticosa* (Anil Cimarro'n). **Rev Cubana Plant Med** ,1:7-10, 1996.
- ARNOLD, D.E. Maya blue and palygorskite: A second possible pre-Columbian source. **Ancient Mesoamerica**, 16, 51-62, 2005.
- BAUTISTA, A. R. P. L; MAIA, P. C. C; RIBEIRO, L. R; OLIVEIRA, E. L. P. G; SALES, L. A. Estudos dos efeitos toxicológicos dos estratos de folhas e frutos de *Indigofera suffruticosa* Mill. em camundongos. I. Estratos hexânicos **Rev. Soc. Bras. Toxicol**;2(1):48-9, jan. 1989.
- BOSSIER JR, SIMON P. THÉRAPIE 17, 1962. p. 1225-1232.
- BOISSER, J.R.; SIMON, P.; SOUBRIE, P. In: Airaksinen, M (ed). Central Nervous System and Behavioural Pharmacology, Oxford: Pergamon Press, 1976. p.213-22.
- BRAGA, R. Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceara. 4ª edição, 41-43. Editora Universitária da UFRN. Natal, 1985.
- BROEKKAMP, C.L.; RIJIK, H.W.; JOLY-GELOIND; LOYD, K.L. Major tranquilizers can be distinguished from minor tranquilizers on the basis of effects on marble burying and swiminduced grooming in the mice. *European Journal of Pharmacology*, 126(3):223-9, 1986.
- CASTRO, H. G & FERREIRA, F. A. 2001 - A Dialética do conhecimento no uso das Plantas Mediciniais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, **3(2)**: 19 - 21.
- COELHO de SOUZA G, HAAS APS, VON POSER GL, SCHAPOVAL EES, ELISABETSKY E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **J Ethnopharmacol**;90:135-43, 2004.
- FEHRI, B., AIACHE, J.M., CORBI, S. MOKNI, M., BEM SAID M., MEMMI, A., HIZAQUI, B., BOUKEF, K. - Effets toxiques eugendrés par une administration réitérée d' *Allium sativum* L.. **Journal of Pharmacology Belgium** **46**: 363-374, 1991.
- FILE, S.E.; WARDILL, A.G.; Validity of head-dipping as a measure of exproation in a modified hole board. **Psychopharmacology**,44:53-9, 1976.
- GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. Fundamentos da Psicofarmacologia. São Paulo: Atheneu, 1999. 246p.

- GUPTA M; MAZUNMDER UK; CHAKRABARTI, S. 1999. **Fitoterapia.** 70, 244.
- HUXTABLE, R.J. (1980) Herbal teas and toxins: novel aspects of pyrrolizidine poisoning in the United States. **Perspectives in Biology and Medicine** 24: 1 – 13.
- KAMAL R.; MANGLA, M. **Journal of Bioscience.** 18(1), 93-110, 1993.
- LEITE, S. P. ; LEITE, Ana C R ; SILVA, Maria B R ; PAIVA, Patrícia M G ; COELHO, Luana C B B ; LIMA, Vera L M . Atividade Lectínica em Folhas de INDIGOFERA SUFFRUTICOSA. VI Reunião Regional da Sbbq. Nordeste, Fortaleza-Ceará, v. 1, p. 09-11, 2003.
- LEITE SP, SILVA LLS, CATANHO MTJA, LIMA EO, LIMA VLM. Antiinflammatory activity of Indigofera suffruticosa extract. **REBRASA** 7:47–52, 2003.
- LEITE SP, VIEIRA JRC, MEDEIROS PL, LEITE RMP, LIMA VLM, XAVIER HS. Antimicrobial activity of Indigofera suffruticosa. **Evid Based Complement Alternat Med**;3:261–5, 2006.
- LITCHFIELD, J.D.; WILCOXON, F.A. Simplified method of evaluation dose-effect experiments. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 96:99-113, 1949.
- LEHMANN J, HUTCHISON A, MCPHERSON SE, MONDADORI C, SCHMUTZ M, SINTON CM, TSAI C, MURPHY DE, STEEL DJ, WILLIAMS M, CHENEY DL, WOOD PL CGS 19755, a selective and competitive *N*-metil-D-aspartate-type excitatory amino acid receptor antagonist. **J PharmacolExp Ther** 246: 65-75, 1988.
- LISTER RG. 1987. *Psychopharmacology.* 92, 180.
- LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. Nova Odessa, SP. Edição do Autor, p. 271-2, 1982.
- LÖSCHER W., SCHIMIDT D. New Horizons in the development of antiepileptic drugs. *Epilepsy Research*, 50:3 – 16, 2002.
- MEDEIROS, P. L.D; SILVA, E. C. ; SILVA, L. L. S. ; ANDRADE, C. R. ; VIEIRA, J. R. C. ; AQUINO, A. C. R. F. ; AIRES, A. L. ; ROSAS, E. P. ; LIMA, A.C. ; LEITE, S. P. ; Embriotoxicidade do extrato aquoso de folhas de *indigofera suffruticosa* no controle do *aedes aegypti*. *Biologia Celular e do Desenvolvimento, UFPE; Histologia e Embriologia, UFPE; Análises Clínicas, UFPE;* .
- MELLO, L.E.A.M.; BORTOLLOTO, Z.A.; CAVALHEIRO, E.A. Modelos experimentais de eplepsia: uma revisão. *Neurobiol*, 49:231-68, 1986.
- MORATO, S.; BRANDÃO, M. L.; Paradoxal increase of exploratory behavior in the elevated plus-maze by rats exposed to two kinds of aversive stimuli. **Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research**, 30:1113-20, 1997.

NOGUEIRA, T.C.M.L. II Curso de validação de plantas medicinais com atividade no sistema nervosa central. Programa Iberoamericano de Ciência e Tecnologia para o Desenvolvimento/Rede Iberoamericana de Validação de Plantas Mediciniais, Florianópolis, 1997.

ROIG T, MESA JT. Plantas Medicinales Aromáticas y Venenosas de Cuba. **La Habana Cuba**: Editorial Ciencia y Técnica Instituto del Libro, 315–16, 1974.

SALATINO A, TEIXEIRA EW, NEGRI G, MESSAGE D. Origin and chemical variation of Brazilian Propolis. **Evid Based Complement Alternat Med** 2:33–38, 2005.

SCHOENTAL, R. Health hazards of pyrrolizidine alkaloids: a short review. **Toxicology Letters** 10: 323 – 326, 1982.

SPERONI E., MINGHETTI A. 1988. *Planta Medica*. 54, 488.

SWINYARD EA, WOODHEAD JH, WHITE HS, FRANKLIN MR. Experimental selection, qualification and evaluation of anticonvulsant. In: Levy RH, Dreyfuss FE, Mattson RM, Meldrum BS, Penry JK, editors. **Antiepileptic drugs**. New York: Raven Press, p.85. 1989.

TREIT, D.; PINEL J.P.; FIBIGER, H.C. Conditioned defensive burying: a new paradigm for the study of anxiolytic agents. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*, 15(4): 619-26, 1981.

VIEIRA, J.R.C.; SOUZA I.A.; NASCIMENTO, S.C.; LEITE, S.P. *Indigofera suffruticosa*: An Alternative Anticancer Therapy. Advance Access Publication. 4(3)355–359, 2007.

WHITE, H.S. Clinical significance of animal seizure models and mechanism of action studies of potential antiepileptic drugs. **Epilepsia**, 38:S9-S17, 1997.

WONG B.M., RODRIGUEZ S.N., ALEJO P.L.J, PEREZ F.M. Actividad de la *Indigofera suffruticosa* Mill en la epilepsia crónica experimental y su relación con aminoácidos neurotransmisores. **Rev Cubana Plant Med** 1:18–21, 1999.

ZIA, A. SIDDIQUI, B.S.; BEGUM, S.; SURIA, A. Studies on the constituents of the leaves of *Nerium Oleander* on behavior pattern in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, 49:33-9, 1995.

12. ORÇAMENTO

TÍTULO DO PROJETO

AVALIAÇÃO DO PERFIL PSICOFARMACOLÓGICO DE *Indigofera suffruticosa* MILL EM ROEDORES: ANÁLISE DE SUA AÇÃO ANSIOLÍTICA E ANTICONVULSIVANTE.

MATERIAL PERMANENTE

QUANT.	DISCRIMINAÇÃO	UNID	PREÇO	
			UNIT. R\$	TOTAL R\$
01	Termômetro de mercúrio grande	UNID	45,00	45,00
10	Béqueres	UNID	6,80	68,00
05	Pinça clínica	UNID	3,00	15,00
05	Pinça dente de rato	UNID	3,00	15,00
01	Estufa	UNID	713,00	713,00
06	Gaiolas	UNID	250,00	1200,00
03	Porta-agulha	UNID	28,00	84,00
03	Tesoura	UNID	7,50	22,50
40	Vidros de 20ml	UNID	0,95	38,00
	TOTAL			2200,50

É importante ressaltar que a pesquisadora responsável por este projeto de pesquisa, Thaís Malheiros Chaves, arcará com todos os custos descritos na tabela acima.

Data ___ / ___ / ___

Pesquisadora

Orientador

ORÇAMENTO

TÍTULO DO PROJETO

AVALIAÇÃO DO PERFIL PSICOFARMACOLÓGICO DE *Indigofera suffruticosa* MILL EM ROEDORES: ANÁLISE DE SUA AÇÃO ANSIOLÍTICA E ANTICONVULSIVANTE.

MATERIAL DE CONSUMO

QUANT.	DISCRIMINAÇÃO	UNID	PREÇO UNIT. R\$	PREÇO TOTAL R\$
08	Ração Labina	PCT	60,00	480,00
50	Máscaras descartáveis	UNID	0,10	5,00
01	Ácido acético glacial	LITRO	40,00	40,00
01	Hidrocloridrato de naloxona	PCT	600,00	600,00
01	Morfina	PCT	400,00	400,00
03	Solução de cloreto de sódio	LITRO	3,00	9,00
10	Caixas de luva para procedimento	CX	12,00	120,00
01	Dimetilsulfóxido	PCT	100,00	100,00
01	Óculos de proteção	UNID	17,00	17,00
03	Seringa descartável c/ agulha 1ml	CX	45,00	135,00
01	Diazepam	UNID	86,94	86,94
01	Pentilenotetrazol	UNID	96,12	96,12
08	Etanol P.A.	LITRO	12,50	100,00
01	Pentobarbital sódico	UNID		282,60
01	Etiquetas adesivas	PCT	3,00	3,00
01	Toucas descartáveis	CX	7,00	7,00
03	Papel toalha	PCT	2,70	8,10
	TOTAL			2.489,76

É importante ressaltar que a pesquisadora responsável por este projeto de pesquisa, Thaís Malheiros Chaves, arcará com todos os custos descritos na tabela acima.

Data ___/___/___

Pesquisadora

Orientador

ORÇAMENTO

TÍTULO DO PROJETO

AVALIAÇÃO DO PERFIL PSICOFARMACOLÓGICO DE *Indigofera suffruticosa* MILL EM ROEDORES: ANÁLISE DE SUA AÇÃO ANSIOLÍTICA E ANTICONVULSIVANTE.

SERVIÇOS DE TERCEIROS

DISCRIMINAÇÃO	LOCAL	VALOR
Med-Line	IMIP	100,00
Tradução	Norma	900,00
Digitação	DigiArte	300,00
Impressão	DigiArte	900,00
Encadernação	Copiadora Caxangá	300,00
Estatística	Edmilson	300,00
Outros Serviços		200,00
TOTAL		3.000,00

É importante ressaltar que a pesquisadora responsável por este projeto de pesquisa, Thaís Malheiros Chaves, arcará com todos os custos descritos na tabela acima.

Data ___ / ___ / ___

Pesquisadora

Orientador