

**Avaliação de efeitos preliminares do plumierídeo após administração oral a camundongos****Evaluation of plumieride's preliminary effects triggered by oral administration to mice**

DOI:10.34119/bjhrv2n6-067

Recebimento dos originais: 07/10/2019

Aceitação para publicação: 09/12/2019

**Ana Paula Dalmagro**

Doutora em Ciências Farmacêuticas (UNIVALI)

Instituição: Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI) /

Universidade Regional de Blumenau (FURB)

Endereço completo: Rua Uruguai 458, Centro, CEP 88302-202, Itajaí/SC, Brasil

Rua Antônio da Veiga 140, Itoupava Seca, CEP 89030-903, Blumenau/SC, Brasil

E-mail: anap.dalmagro@gmail.com

**Anderson Camargo**

Doutorando em Neurociências (UFSC)

Instituição: Universidade Regional de Blumenau (FURB)

Endereço completo: Rua Antônio da Veiga 140, Itoupava Seca, CEP 89030-903,

Blumenau/SC, Brasil

**Priscila Laiz Zimath**

Doutoranda em Farmacologia (UFSC)

Instituição: Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI)

Endereço completo: Rua Uruguai 458, Centro, CEP 88302-202, Itajaí/SC, Brasil

**Tiago José Bonomini**

Doutor em Ciências Farmacêuticas

Instituição: Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI)

Endereço completo: Rua Uruguai 458, Centro, CEP 88302-202, Itajaí/SC, Brasil

**Ana Lúcia Bertarello Zeni**

Docente e pesquisadora

Instituição: Universidade Regional de Blumenau (FURB)

Endereço completo: Rua Antônio da Veiga 140, Itoupava Seca, CEP 89030-903,

Blumenau/SC, Brasil

**Angela Malheiros**

Docente e pesquisadora

Instituição: Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI)

Endereço completo: Rua Uruguai 458, Centro, CEP 88302-202, Itajaí/SC, Brasil

**Márcia Maria de Souza**

Docente e pesquisadora

Instituição: Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI)

Endereço completo: Rua Uruguai 458, Centro, CEP 88302-202, Itajaí/SC, Brasil

**RESUMO**

A pesquisa de moléculas oriundas do metabolismo secundário de plantas tem apresentado resultados promissores ao longo dos anos. Novas classes de compostos, como os iridoídeos, despertam interesse científico devido às suas propriedades farmacológicas. O plumierídeo (PLU), um iridoídeo isolado das flores de *Allamanda cathartica*, vem sendo estudado por nosso grupo de pesquisa quanto aos seus efeitos anti-inflamatório e antidepressivo após administração intraperitoneal. Entretanto, não há informações disponíveis na literatura sobre seus efeitos preliminares no SNC de camundongos após administração por via oral. Este trabalho objetivou a investigação dos possíveis efeitos pró-convulsivante ou anticonvulsivante do plumierídeo, além das possíveis interferências no sistema locomotor e emocionalidade de camundongos. Para tanto, os procedimentos foram aprovados pelo CEUA/UNIVALI (035/2016). Os testes de convulsão foram realizados através do tratamento de camundongos Swiss fêmeas com veículo, PLU (0,5, 1 e 2 µg/Kg, v.o.) e o fármaco fenobarbital (50 mg/Kg, i.p.), sendo posteriormente expostas aos agentes convulsivantes pentilenotetrazol (PTZ, 100 mg/Kg, i.p.) e estriçnina (ESTR, 4 mg/Kg, i.p.). A capacidade de locomoção e equilíbrio foi testada em camundongos tratados com veículo ou PLU (0,5, 1 e 2 µg/Kg, v.o.) no Rota-Rod. Já a emocionalidade foi investigada através do teste do campo aberto (TCA). Quanto aos resultados, o iridoídeo não foi capaz de exercer efeito pró-convulsivante ou anticonvulsivante frente ao PTZ ou ESTR, diferentemente do fenobarbital. O mesmo também não diminuiu a mortalidade dos camundongos. A administração aguda por via oral das doses testadas não interferiu na capacidade locomotora, equilíbrio ou emocionalidade dos animais. Sugere-se que novos estudos sejam conduzidos com doses maiores do plumierídeo, entretanto, os dados da pesquisa são cruciais para fomentar as investigações farmacológicas subsequentes do iridoídeo.

**Palavras-chave:** Plumierídeo, Anticonvulsivante, Locomoção, Emocionalidade.

**ABSTRACT**

The research concerning molecules from secondary plant metabolism has shown promising results over the years. New classes of compounds, such as iridoids, arouse scientific interest due to their pharmacological properties. Plumieride (PLU), an iridoid isolated from *Allamanda cathartica* flowers, has been studied by our research group for its anti-inflammatory and antidepressant effects following intraperitoneal administration. However, there is no information available in the literature about its preliminary effects on the CNS of mice after oral administration. This study aimed to investigate the possible proconvulsant or anticonvulsant effects of the plumieride, as well as possible interference with the locomotor system and emotionality of mice. For these purposes, the procedures were approved by CEUA / UNIVALI (035/2016). Seizure tests were performed by treatment of female Swiss mice with vehicle, PLU (0.5, 1 and 2 µg/Kg, v.o.) and phenobarbital (50 mg/Kg), and subsequently exposed to convulsively pentylenetetrazole (PTZ, 100 mg/Kg, i.p.) and strychnine (ESTR, 4 mg/Kg, i.p.). The locomotor activity and balance were tested in-vehicle or PLU treated mice (0.5, 1, and 2 µg/Kg, v.o.) submitted to the Rota-Rod test. Emotionality was investigated through the Open Field Test (OFT). Regarding the results, the iridoid was not able to exert a proconvulsant or anticonvulsant effect against PTZ or ESTR ( $p > 0.05$ ), contrary to phenobarbital ( $p < 0.05$ ). It also did not decrease the mortality of mice. Acute oral administration of the doses tested did not affect the locomotor capacity, balance, or emotionality of the animals ( $p > 0.05$ ). Further studies are suggested to be conducted with higher doses of plumieride; however, research data are crucial to subsequent pharmacological investigations of the iridoid.

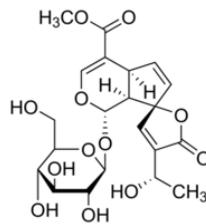
**Keywords:** Plumieride, Anticonvulsant, Locomotion, Emotionality.

## 1 INTRODUÇÃO

Os iridoides são uma classe de metabólitos secundários que tem recebido atenção da comunidade científica devido aos seus pronunciados efeitos farmacológicos em modelos animais, quanto às atividades hipolipidêmica, antiviral, antibacteriano, hipoglicêmico, anti-inflamatório e antidepressivo (CHENG et al., 2018; HUSSAIN et al., 2018; PANKOKE et al., 2013; ZHOU et al., 2016). Dentre eles, o plumierídeo têm sido estudados por nosso grupo de pesquisa devido aos efeitos tipo-antidepressivo e anti-inflamatório após baixas doses administradas aos camundongos (BONOMINI et al., 2017; SILVA, 2007).

A sua estrutura química é composta por um anel ciclopentano-pirano e um glicosídeo (conforme figura 1), o que confere alta solubilidade na molécula (SIMÕES et al., 2003). Seu isolamento já foi registrado a partir dos gêneros *Plumeria* e *Plantago*, além da *Allamanda cathartica* (CHATTERJEE et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2014; PANKOKE et al., 2013).

**Figura 1.** Estrutura química do plumierídeo



Silva (2007) relata pronunciados efeitos do iridoide (0,0001-1 µg/Kg) sob quadros de inflamação e dor induzidos por carragenina em camundongos e ratos, após administração oral. Efeitos semelhantes foram obtidos também após administração subcutânea (0,1-100 µg/Kg) em camundongos induzidos por carragenina, dextrana, zimozano e formalina. Bonomini et al. (2017) apontam um efeito tipo-antidepressivo após administração por via intraperitoneal (1 e 2 µg/Kg), sem sinais de toxicidade após dose única de 2000 mg/Kg (v.o.) e observação durante 14 dias. Ainda de interesse para a presente pesquisa, Holzmann (2013) eluciou parte do mecanismo de ação do plumierídeo (1 µg/Kg, i.p.) quanto ao seu efeito tipo-antidepressivo: a autora investigou a interação dos sistemas adrenérgico, serotoninérgico e glutamatérgico nesse efeito farmacológico testado em camundongos submetidos ao teste do nado forçado (TNF).

Demais atividades farmacológicas importantes atribuídas ao plumierídeo na literatura são: antifúngico (TIWARI et al., 2002); antitumoral (DOBHAL et al., 2004); antioxidante e anti-inflamatório em modelo de colite induzida por dextrano sulfato de sódio (BOEING et al.,

2018) e hepatoprotetor em ratos submetidos a danos por tetracloreto de carbono (SINGH et al., 2014).

Contudo, até o presente momento, não há relatos disponíveis sobre investigações preliminares acerca dos efeitos do plumierídeo no SNC e sistema locomotor de camundongos após administração por via oral. Apesar dos promissores resultados citados acima, vários estudos apontam diferentes comportamentos farmacocinético e farmacodinâmico de compostos dependendo da dose e via de administração. Em face do exposto, nosso objetivo ao desenvolver a presente pesquisa foi investigar os possíveis efeitos pró-convulsivante ou anticonvulsivantes do iridoide, além das alterações promovidas sob parâmetros de locomoção e emocionalidade dos camundongos após administração aguda por via oral.

## 2 METODOLOGIA

O plumierídeo utilizado para a realização dos ensaios farmacológicos foi extraído das flores de *Allamanda cathartica*, através de maceração etanólica. Sua pureza (superior a 98%) foi avaliada pelas técnicas de *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN). A molécula foi isolada e caracterizada pelo Dr. Tiago Bonomini e Dra. Angela Malheiros, ambos atuantes no Laboratório de Fitoquímica da UNIVALI. Todos os procedimentos detalhados sobre o processo podem ser encontrados nas publicações de BONOMINI et al. (2017) e NASCIMENTO et al. (2014).

Quanto à realização dos experimentos farmacológicos, todos os procedimentos foram aprovados integralmente pela Comissão de Ético no Uso de Animais (CEUA) da UNIVALI, sob parecer n. 035/2016. Os autores ressaltam que as metodologias conduzidas são padronizadas por nosso grupo de pesquisa, além de terem sido realizados todos os esforços para minimizar o número de animais utilizados sem comprometer a idoneidade dos resultados. Usou-se camundongos *Swiss* fêmeas, com idade entre 60-90 dias, mantidas em biotério setorial com temperatura controlada entre 21-23 °C, em caixas de polipropileno com 8-10 animais, ciclo claro-escuro de 12 horas (06:30 – 18:30 horas), e com água e ração *ad libitum*.

O plumierídeo (PLU) foi dissolvido unicamente em água destilada para administração por via oral (0,5, 1 e 2 µg/Kg. v.o., gavagem). Fenobarbital (50 mg/Kg, Cristália, SP), pentilenotetrazol (100 mg/Kg, Sigma-Aldrich, St. Louis/CA) e estricinina (4 mg/Kg, Sigma-Aldrich, St. Louis/CA) foram diluídos em solução salina estéril, todos administrados por via intraperitoneal (i.p.). Os grupos denominados ‘Veículo’ receberam apenas água destilada (v.o.).

As doses de plumerídeo foram definidas de acordo com estudos prévios de nosso grupo de pesquisa.

### **Experimento n. 1 – Investigação do efeito desencadeado pelo PLU frente ao agente convulsivante pentilenotetrazol (PTZ)**

Quatro grupos de camundongos (n=8-10) foram administradas com Veículo, PLU 0,5, PLU 1, PLU 2 µg/Kg; via oral, 60 minutos antes do teste. Também se avaliou um fármaco de referência no tratamento dos quadros convulsivantes, o Fenobarbital. Para tanto, administrou-se FENO 50 mg/Kg (i.p.), 30 minutos antes do teste. Após o decorrer do tempo mencionado, os animais foram induzidos a convulsão por uma injeção de PTZ 100 mg/Kg (i.p.). Cronometrou-se a latência para convulsão e os óbitos provocados pelo agente até 24 horas após exposição. Uma substância pode ser considerada anticonvulsivante quando aumenta a latência para convulsão e diminuiu a mortalidade dos animais expostos ao agente convulsivante (HOLZMANN et al., 2014; TOLARDO et al., 2010).

### **Experimento n. 2 – Investigação do efeito desencadeado pelo PLU frente ao agente convulsivante estriçnina (ESTR)**

Mais cinco grupos de camundongos foram utilizados para conduzir esse experimento. Efetuou-se os mesmos procedimentos conforme expostos no item anterior, entretanto, investigou-se o possível efeito anticonvulsivante do PLU frente a um novo agente químico: a estriçnina (4 mg/Kg, i.p.). Os mesmos parâmetros acima foram observados (HOLZMANN et al., 2014; TOLARDO et al., 2010).

### **Experimento n. 3 – Avaliação da influência do PLU na capacidade locomotora dos camundongos**

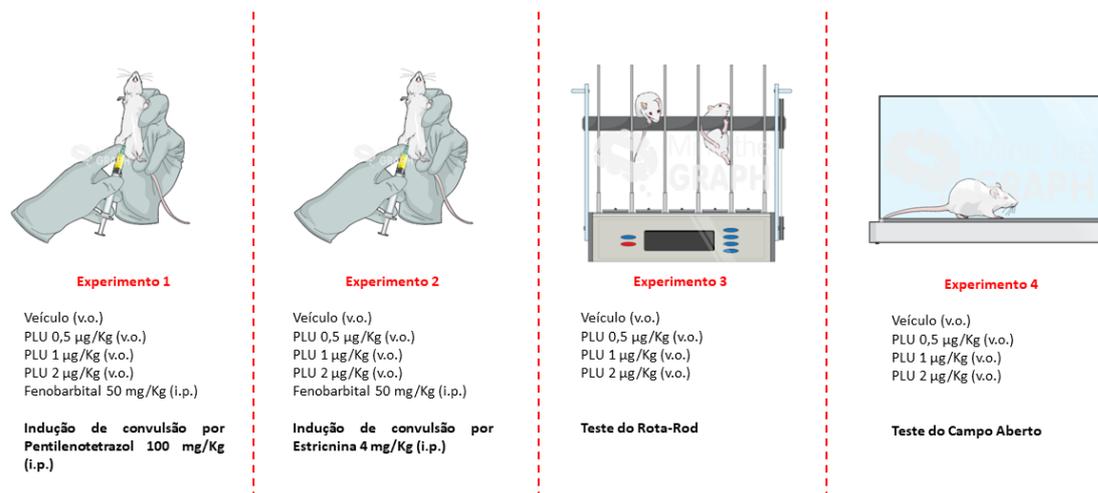
Quatro grupos de camundongos foram tratados com Veículo, PLU 0,5, PLU 1, PLU 2 µg/Kg; via oral, 60 minutos antes do teste comportamental do Rota-Rod. O aparato consiste em uma barra giratória (12 rpm) em que os animais são testados durante 60 segundos. As possíveis alterações na capacidade locomotora, relaxamento muscular ou incoordenação sugerem um efeito da molécula no SNC e sistema locomotor dos animais (TOLARDO et al., 2010).

### **Experimento n. 4 – Avaliação da influência do PLU na emocionalidade dos camundongos**

Mais quatro grupos de foram tratados com Veículo, PLU 0,5, PLU 1, PLU 2 µg/Kg; via oral, 60 minutos antes do Teste do Campo Aberto (TCA). A arena é formada em uma caixa de madeira (40 x 60 x 50 cm), com o chão dividido em 12 quadrantes iguais e a parte frontal em vidro. Durante 6 minutos, os animais permaneceram explorando o aparato individualmente. Ao final desse período, foram contabilizados o número de bolos fecais expelidos por cada camundongo. O aumento ou diminuição desse parâmetro pode indicar um efeito ansiogênico/ansiolítico desencadeado pela molécula (CAMARGO et al., 2018; DALMAGRO et al., 2017).

Todos os procedimentos experimentais realizados na pesquisa estão esquematizados na figura 2.

**Figura 2.** Experimentos conduzidos para investigar os efeitos farmacológicos do plumierídeo frente aos agentes convulsivantes PTZ e ESTR, além de possíveis alterações na capacidade locomotora e emocionalidade dos camundongos.



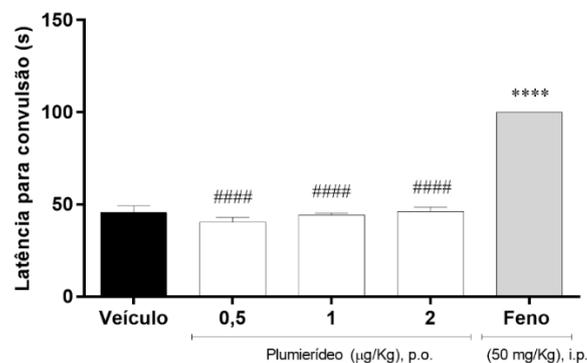
Abreviaturas: i.p = administração intraperitoneal; v.o = administração via oral. A figura foi construída com recursos disponíveis na plataforma *Mind the Graph*.

Os resultados dos testes dos experimentos 1, 2 e 3 foram avaliados estatisticamente através de ANOVA uma via, seguida pelo *post-hoc* de Tukey; já os resultados no experimento 4 foram submetidos a Kruskal-Wallis, seguido pelo *post-hoc* de Dunn's. Foram considerados significados os valores de  $p < 0,05$ .

### 3 RESULTADOS

A administração aguda por via oral de PLU aos camundongos não foi capaz de aumentar o tempo de latência dos animais quando expostos ao agente convulsivante PTZ, em nenhuma das doses testadas ( $p>0,05$ ), além do grupo tratado com veículo. O iridoide não foi capaz de diminuir a mortalidade dos animais (dados não mostrados). Entretanto, o uso de FENO preveniu as crises convulsivas e a mortalidade dos camundongos, de acordo com dados mostrados na figura 3.

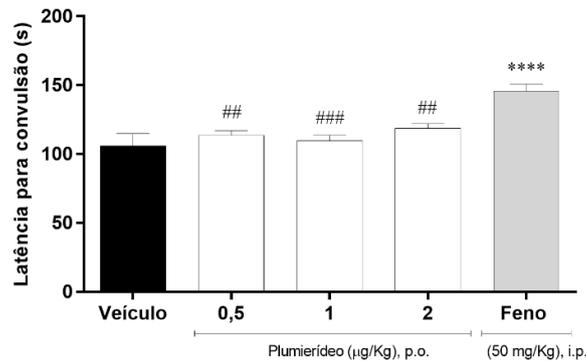
**Figura 3.** Investigação dos efeitos desencadeados pela administração oral de PLU frente ao agente convulsivante Pentilenotetrazol



Os camundongos foram tratados com veículo (água destilada, v.o.), PLU 0,5 µg/Kg (v.o.), PLU 1 µg/Kg (v.o.) e PLU 2 µg/Kg (v.o.), 60 minutos antes da indução de convulsão por pentilenotetrazol (100 mg/Kg, i.p.). O fármaco utilizado como controle positivo foi o fenobarbital (Feno, 50 mg/Kg, i.p.), 30 minutos antes da exposição do PTZ. Os dados foram avaliados por ANOVA, seguida por Tukey. (n=8-10). \*\*\*\*\* $p<0,0001$  quando comparado ao grupo Veículo; #### $p<0,0001$  quando comparado ao grupo Feno.

A figura 4 mostra que nenhuma dose de PLU ou o veículo foram capazes de reduzir a latência para convulsão dos camundongos ( $p>0,05$ ) quando expostos à agente estriçnina. Além disso, os animais não apresentaram aumento no tempo de sobrevivência (dados não mostrados). Contrariamente, o fármaco foi capaz de aumentar o tempo de latência dos camundongos e prevenir crises convulsivas dos animais quando submetidos à estriçnina.

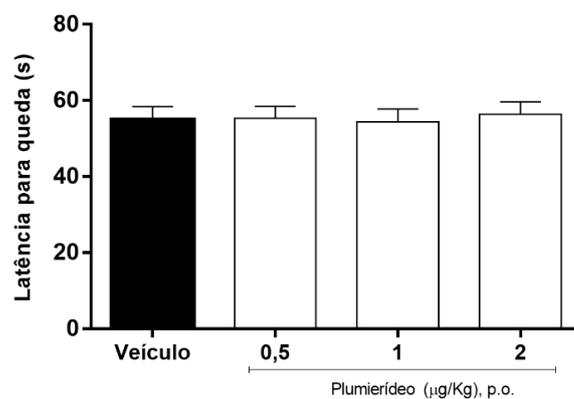
**Figura 4.** Investigação dos efeitos desencadeados pela administração oral de PLU frente ao agente convulsivante Estricnina



Os camundongos foram tratados com veículo (água destilada, v.o.), PLU 0,5 µg/Kg (v.o.), PLU 1 µg/Kg (v.o.) e PLU 2 µg/Kg (v.o.), 60 minutos antes da indução de convulsão por estricnina (4 mg/Kg, i.p.). O fármaco utilizado como controle positivo foi o fenobarbital (Feno, 50 mg/Kg, i.p.), 30 minutos antes da exposição a ESTR. Os dados foram avaliados por ANOVA, seguida por Tukey. (n=8-10). \*\*\*\*p<0,0001 quando comparado ao grupo Veículo; ##p<0,01 quando comparado ao grupo Feno.

O teste do Rota-Rod fornece indícios substanciais sobre a possível influência da molécula testada no sistema locomotor dos animais. A figura 5 mostra que nenhuma das doses de PLU foram capazes de diminuir a latência para queda dos camundongos no teste, indicando que o iridoide não afeta o sistema locomotor dos animais após administração aguda por via oral nas doses testadas.

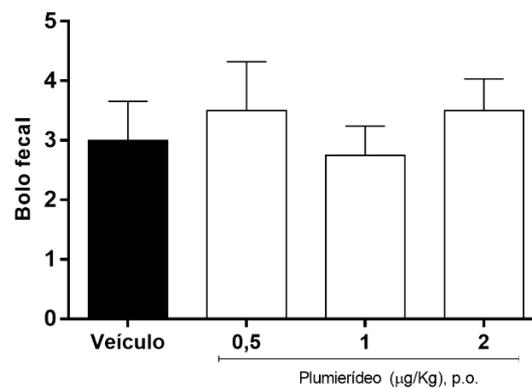
**Figura 5.** Avaliação dos efeitos induzidos pelo PLU na capacidade locomotora e equilíbrio dos camundongos tratados



Os camundongos foram tratados com veículo (água destilada, v.o.), PLU 0,5 µg/Kg (v.o.), PLU 1 µg/Kg (v.o.) e PLU 2 µg/Kg (v.o.), 60 minutos antes da exposição dos animais ao Teste do Rota-Rod. (n=8-10). Os dados foram avaliados por ANOVA, seguida por Tukey. p.0,05.

Além disso, não foram constatadas alterações – diminuição ou aumento – nos bolos fecais expelidos pelos animais durante 6 minutos, quando submetidos ao TCA. Percebe-se ainda uma tendência no grupo PLU 1, sem confirmação pela análise estatística. Perante as condições testadas, pode-se presumir que o PLU não exerça influência na emocionalidade dos camundongos.

**Figura 6.** Avaliação dos efeitos do PLU na emocionalidade dos camundongos testado no Campo aberto



Os camundongos foram tratados com veículo (água destilada, v.o.), PLU 0,5 µg/Kg (v.o.), PLU 1 µg/Kg (v.o.) e PLU 2 µg/Kg (v.o.), 60 minutos antes da submissão dos camundongos ao Teste do Campo Aberto. Os dados foram avaliados por Kruskal-Wallis, seguido de Dunn's.  $p > 0,05$ .

## 4 DISCUSSÃO

O plumierídeo, um iridoide isolado das flores de *Allamanda cathartica* para a execução da pesquisa, tem sido reportado como promissor agente farmacológico em quadros de dor e inflamação, colite e hepatoproteção. Além disso, efeito tipo-antidepressivo já foi atribuído ao mesmo após administração por via intraperitoneal a camundongos (BONOMINI et al., 2017; HOLZMANN et al., 2013). Até o presente momento, este é o primeiro estudo que relata possíveis efeitos preliminares desencadeados pelo PLU em camundongos após administração oral.

Os dois primeiros experimentos conduzidos objetivaram investigar efeitos anticonvulsivante ou pró-convulsivante do iridoide, porque a epilepsia é um transtorno severo que atinge cerca de 70 milhões de pessoas no mundo, sendo que aproximadamente 80% dos acometidos residem em países menos desenvolvidos e em desenvolvimento, atinge principalmente crianças com menos de 1 ano e adultos com mais de 50 anos. É uma doença retratada como provedora de forte estigma social e, um dos principais reflexos, é a estimativa

que cerca 75% dos acometidos não receba o tratamento farmacológico adequado (ENGLAND et al., 2012; MEGIDDO et al., 2016; THJS et al., 2019). Já a pesquisa do um possível efeito pró-convulsivante é indispensável para a continuação dos estudos referentes ao potencial farmacológico do PLU no SNC, há vários relatos na literatura sobre a comorbidade entre epilepsia e transtornos como depressão e ansiedade. Além disso, diversos fármacos (como os antidepressivos) são associados ao potencial de indução de crises convulsivas em alguns pacientes (LANDMARK et al., 2016).

A epilepsia é caracterizada pelo desencadeamento de convulsões recorrentes (movimentos involuntários) que podem atingir o corpo todo – generalizada, ou parte dele – focal, além de um terceiro tipo onde há combinação de crises focais com generalizadas. As crises podem estar acompanhadas com perda ou não da consciência (MOSHÉ et al., 2014). Em 2017, a Liga Internacional Contra a Epilepsia (ILAE) desenvolveu uma classificação das crises convulsivas e apresentou como as prováveis causas etiológicas: estrutural, genética, infecciosa, metabólica, imune e/ou desconhecida (FISHER et al., 2017). Entretanto, o mecanismo relacionado ao surgimento e progressão da crise convulsiva, continua indefinido (MEGIDDO et al., 2016).

A teoria com maior notoriedade proposta recentemente sobre convulsões postula muito além da hiperexcitabilidade de alguns neurônios com liberação exarcebada de glutamato e/ou inibição do sistema GABAérgico. Novas teorias sobre suas bases fisiopatológicas propõe um efeito obtido através de vários elementos, não apenas de um isolado. Além disso, menciona uma maior participação das células da glia nas convulsões devido ao controle da permeabilidade da barreira hemato-encefálica e volume extracelular, síntese de neurotransmissores, liberação de compostos ativos como citocinas inflamatórias, aminoácidos e ATP. Um dos principais motivos que a fez ganhar notoriedade consiste no fato de que em roedores com idade entre 2-3 semanas, a ativação dos receptores GABA<sub>A</sub> e posterior despolarização da membrana neuronal são ‘normais’, enquanto a mesma condição em animais mais velhos pode ser letal (AVANZINI et al., 2012; MOSHÉ et al., 2014; THJS et al., 2019).

A interação entre diversos sistemas explicaria o porquê de a epilepsia ser comorbidade de diversas outras patologias, principalmente os transtornos de humor. Somado a isso, a perda da “resiliência” da rede neuronal poderia explicar o surgimento da crise. Os principais fatores epigenéticos relacionados às alterações de sinalização nas redes neuronais são a inflamação, estresse, drogas, e até mesmo os antidepressivos tricíclicos (AVANZINI et al., 2012; CHANG et al., 2018; GÓRSKA et al., 2018; MOSHÉ et al., 2014). A pesquisa acerca dos processos

convulsivos e fármacos com novos mecanismos de ação, torna-se indispensável devido às controversas bases da fisiopatologia. Somado à isso, já são vários os relatos sobre tolerância às drogas epiléticas, resultando em um comprometimento ainda mais severo da qualidade e tempo de vida dos acometidos. Ainda devido ao envolvimento de processos inflamatórios na epilepsia, é crucial que os novos agentes terapêuticos também sejam neuroprotetores (KWAN et al., 2011; LÖSCHER et al., 2016; SUCHER; CARLES, 2015).

Para mimetizar uma convulsão do tipo tônico-clônica em ambiente laboratorial, foram utilizados dois agentes no presente estudo: o pentilenotetrazol (um antagonista de receptor GABAérgico) e a estricinina (bloqueador do receptor pós-sináptico de glicina). Após administração aguda por via oral, o plumierídeo não foi capaz de aumentar a latência para a convulsão frente ao PTZ e ESTR, nem diminuir a mortalidade dos animais expostos aos agentes convulsivantes; resultado este que corrobora com dados descritos por BONOMINI et al. (2017), onde a administração i.p. do iridoide também não aumentou a latência para convulsão após o PTZ. Quanto a esse efeito farmacológico, pode-se inferir que o mesmo não depende da via de administração nas doses testadas.

Há relatos na literatura quanto à capacidade anticonvulsivante de alguns iridoídeos: *Swertiamarin* nas doses 50, 150 e 450 mg/Kg, foi capaz de exercer efeito anticonvulsivante e neuroprotetor; Aucubin (100 mg/Kg), iridoide isolado de *Eucommia ulmoides*, que também apresentou efeito anticonvulsivante, antiinflamatório e neuroprotetor, ambos frente à pilocarpina (CHEN et al., 2019; DENG et al., 2017). Já a fração de iridoídeos glicosilados (30-90 mg/Kg) de *Feretia apodanthera* Del. foi eficaz em modelo desencadeado por bicuculina e PTZ (TAIWE et al., 2016).

Ainda, nós estudamos as possíveis interferências que as três doses do iridoide viessem a desencadear no sistema locomotor e equilíbrio dos camundongos através do teste do Rota-Rod. O mesmo consiste em uma sessão treino com os animais, onde os camundongos são expostos a barra giratória (12 rpm) até que permaneçam durante 60 segundos equilibrando-se. 23 horas após, os camundongos foram tratados com PLU e veículo, sendo expostos ao teste novamente após 60 minutos da administração. Os dados obtidos após a sessão de teste apontam que o tratamento agudo com qualquer dose do iridoide não afetou a locomoção e o equilíbrio dos camundongos (BROOKS et al., 2009).

Ainda corroborando com os dados acima, o PLU também não promoveu comportamento ansiogênico ou ansiolítico nos animais, avaliados através da liberação de bolos fecais no teste do campo aberto. Esta metodologia também é amplamente utilizada para

averguiação da interferência motora e na capacidade exploratória dos animais desencadeados por uma substância, evitando resultados falso-positivos ou falso-negativos em testes comportamentais (CAMARGO et al., 2018; DALMAGRO et al., 2017).

Diante dos importantes efeitos farmacológicos que têm sido atribuídos ao PLU, a contribuição da presente pesquisa é crucial para indicar possíveis efeitos deletérios desencadeados pelo mesmo após administração aguda por via oral. Essas informações ainda servem como direcionamento aos demais estudos, que visam a investigação dos mecanismos moleculares pelos quais o PLU atua, além de diferentes esquemas de tratamento por períodos variáveis.

### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e UNIVALI pelo auxílio financeiro e/ou bolsas destinadas aos pesquisadores envolvidos no presente trabalho.

### **CONFLITO DE INTERESSE**

Os autores declaram não haver conflitos de interesse com a pesquisa. Os dados apresentados aqui são provenientes da pesquisa realizada em período de doutoramento de Ana Paula Dalmagro.

### **REFERÊNCIAS**

AVANZINI, G. et al. The system epilepsies: A pathophysiological hypothesis. **Epilepsia**, v. 53, n. 5, p. 771–778, 2012.

BOEING, T. et al. Antioxidant and anti-inflammatory effect of plumieride in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 99, p. 697–703, 2018.

BONOMINI, T. J. et al. Neuropharmacological and acute toxicological evaluation of ethanolic extract of *Allamanda cathartica* L. flowers and plumieride. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 91, 2017.

BROOKS, S. P.; DUNNETT, S. B. Tests to a user's guide. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 7, p. 519-529, 2009.

CAMARGO, A. et al. Cholecalciferol counteracts depressive-like behavior and oxidative stress induced by repeated corticosterone treatment in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 833, p. 451–461, 2018.

CHANG, W.-C. et al. Loss of neuronal network resilience precedes seizures and determines the ictogenic nature of interictal synaptic perturbations. **Nature Neuroscience**, v. 21, n. 12, p. 1742–1752, 2018.

CHATTERJEE, M. et al. Anxiolytic effects of *Plumeria rubra* var. *acutifolia* (Poiret) L. flower extracts in the elevated plus-maze model of anxiety in mice. **Asian Journal of Psychiatry**, v. 6, n. 2, p. 113–118, 2013.

CHEN, S. et al. Aucubin alleviates seizures activity in Li-Pilocarpine-Induced epileptic mice: involvement of inhibition of neuroinflammation and regulation of neurotransmission. **Neurochemical Research**, v. 44, p. 472-484, 2019.

CHENG, J. et al. Magnolol abrogates chronic mild stress-induced depressive-like behaviors by inhibiting neuroinflammation and oxidative stress in the prefrontal cortex of mice. **International Immunopharmacology**, v. 59, p. 61–67, 2018.

DALMAGRO, A. P.; CAMARGO, A.; ZENI, A. L. B. *Morus nigra* and its major phenolic, syringic acid, have antidepressant-like and neuroprotective effects in mice. **Metabolic Brain Disease**, v. 32, n. 6, p. 1963–1973, 2017.

DENG, X-H. et al. Anticonvulsant effect of Swertiamarin against Pilocarpine-induced seizures in adult male mice. **Neurochemistry Research**, v. 42, n. 11, p. 3103-3113, 2017.

DOBHAL, M. et al. Structural modifications of plumieride isolated from *Plumeria bicolor* and the effect of these modifications on in vitro anticancer activity. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 69, p. 6165–6172, 2004.

ENGLAND, M. J. et al. Epilepsy across the spectrum: Promoting health and understanding. A summary of the Institute of Medicine report. **Epilepsy and Behavior**, v. 25, n. 2, p. 266–276, 2012.

FISHER, R. S. et al. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. **Zeitschrift fur Epileptologie**, v. 31, n. 4, p. 272–281, 2017.

GÓRSKA, N. et al. Antidepressants in epilepsy. **Neurologia i Neurochirurgia Polska**, v. 52, n. 6, p. 657-661, 2018.

HOLZMANN, I. Mecanismo de sinalização celular do efeito antidepressivo de compostos isolados de *Allamanda cathartica* e *Bouheria huanita*. 134f. **Dissertação** (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UNIVALI, Itajaí, 2013.

HOLZMANN, I. et al. Psychopharmacological profile of hydroalcoholic extract and p-hydroxybenzoic acid obtained from *Bouheria huanita* (Boraginaceae) in Mice. **Pharmacology & Pharmacy**, v. 05, n. 11, p. 983–995, 2014.

HUSSAIN, N. et al. New iridoids from *Lyonia ovalifolia* and their anti-hyperglycemic effects in mice pancreatic islets. **Fitoterapia**, v. 131, p. 168–173, 2018.

KWAN, P.; SCHACHTER, S. C.; BRODIE, M. J. Drug-Resistant Epilepsy. **The New England Journal of Medicine**, v. 365, p. 919-926, 2011.

LANDMARK, C. J.; HENNING, O.; JOHANNESSEN, S. I. Proconvulsant effects of antidepressants – What is current evidence? **Epilepsy & Behavior**, v. 61, p. 287-291, 2016.

LÖSCHER, W. et al. Synaptic vesicle glycoprotein 2A ligands in the treatment of epilepsy and beyond. **CNS Drugs**, v. 30, n. 11, p. 1055–1077, 2016.

MEGIDDO, I. et al. Health and economic benefits of public financing of epilepsy treatment in India: An agent-based simulation model. **Epilepsia**, v. 57, n. 3, p. 464–474, 2016.

MOSHÉ, S. L. et al. Epilepsy : new advances. **The Lancet**, v. 385, n. 9971, p. 884-894i, 2014.

NASCIMENTO, F. G. et al. Seasonal influence and cytotoxicity of extracts, fractions and major compounds from *Allamanda schottii*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 24, n. 5, p. 545–552, 2014.

PANKOKE, H.; BUSCHMANN, T.; MÜLLER, C. Role of plant  $\beta$ -glucosidases in the dual defense system of iridoid glycosides and their hydrolyzing enzymes in *Plantago lanceolata* and *Plantago major*. **Phytochemistry**, v. 94, p. 99–107, 2013.

SILVA, K. A. B. S. Caracterização dos efeitos do plumierídeo, um iridóide isolado de *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae), em modelos de inflamação e dor. 108f. **Dissertação** (Mestrado) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

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

SINGH, D. et al. Antioxidant potential of plumieride against CCl<sub>4</sub>-induced peroxidative damage in rats. **Antioxidants**, v. 3, n. 4, p. 798–813, 2014.

SUCHER, N. J.; CARLES, M. C. A pharmacological basis of herbal medicines for epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v. 52, p. 308-318, 2015.

TAIWE, G. S. et al. Anticonvulsant effects of iridoid glycosides fraction purified from *Feretia apodanthera* Del. (Rubiaceae) in experimental mice models of generalized tonic-clonic seizures. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 1–17, 2016.

THIJS, R. D. et al. Seminar Epilepsy in adults. **The Lancet**, v. 6736, n. 18, 2019.

TIWARI, T. N.; PANDEY, V. B.; DUBEY, N. K. Plumieride from *Allamanda cathartica* as an antidermatophytic agent. **Phytotherapy Research**, v. 394, p. 393–394, 2002.

TOLARDO, R. et al. Evaluation of behavioral and pharmacological effects of *Hedyosmum brasiliense* and isolated sesquiterpene lactones in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, n. 1, p. 63–70, 2010.

ZHOU, Z-L. et al. New iridoid glycosides with antidepressant activity isolated from *Cyperus rotundus*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 64, p. 73-77, 2016.