



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DAS ÁGUAS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

NATANIELY CRISTINA PINTO PIMENTEL

**AVALIAÇÃO DA POTENCIAL ATIVIDADE FARMACOLÓGICA
ANTICOVULSIVANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Cyperus articulatus* L.
(PRIPRIOCA) EM JUVENIS DE TAMBAQUI**

**SANTARÉM – PARÁ
2023**

NATANIELY CRISTINA PINTO PIMENTEL

**AVALIAÇÃO DA POTENCIAL ATIVIDADE FARMACOLÓGICA
ANTICOVULSIVANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Cyperus articulatus* L.
(PRIPRIOCA) EM JUVENIS DE TAMBAQUI**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para
obtenção de grau de Bacharelado em Ciências
Biológicas. Universidade Federal do Oeste do
Pará. Instituto de Ciências e Tecnologia das
Águas.

Orientador: Dr. Maxwell Barbosa de Santana

**SANTARÉM – PARÁ
2023**


NATANIELY CRISTINA PINTO PIMENTEL

**AVALIAÇÃO DA POTENCIAL ATIVIDADE FARMACOLÓGICA
ANTICOVULSIVANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Cyperus articulatus* L.
(PRIPRIOCA) EM JUVENIS DE TAMBAQUI**


Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para
obtenção de grau de Bacharelado em Ciências
Biológicas. Universidade Federal do Oeste do
Pará. Instituto de Ciências e Tecnologia das
Águas.

Conceito: APROVADA

Data da aprovação: 21 / 06 / 2023

Documento assinado digitalmente
 MAXWELL BARBOSA DE SANTANA
Data: 04/07/2023 23:49:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Maxwell Barbosa de Santana - Orientador
Universidade Federal do Oeste do Pará

Documento assinado digitalmente
 JOAO DAVID BATISTA LISBOA
Data: 04/07/2023 16:18:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. M.Sc. João David Batista Lisboa
Universidade Federal do Oeste do Pará

Documento assinado digitalmente
 EVELEISE SAMIRA MARTINS CANTO
Data: 04/07/2023 15:31:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Eveleise Samira Martins Canto
Universidade Federal do Oeste do Pará

**SANTARÉM – PARÁ
2023**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

- P644a Pimentel, Nataniely Cristina Pinto
Avaliação da potencial atividade farmacológica anticonvulsivante do óleo essencial da *Cyperus articulatus* L. (Priprioca) em juvenis de tambaqui./ Nataniely Cristina Pinto Pimentel.- Santarém, 2023.
51 p. : il.
Inclui bibliografias.
- Orientador: Maxwell Barbosa de Santana.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas, Bacharelado em Ciências Biológicas.
1. Colossoma macropomum. 2. Cyperus articulatus. 3. Convulsões. I. Santana, Maxwell Barbosa de, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 639.3

À Deus e a minha família.

“Tudo é possível ao que crer”.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por me sustentar até aqui e a minha família por todo o apoio durante esses anos de graduação. Obrigada por todo incentivo, amor e cuidado. Obrigado por ser minha base e sempre estarem comigo, amo vocês!

Agradeço ao Prof. Dr. Maxwell Barbosa de Santana por todo conhecimento compartilhado e toda orientação. Desde 2017 aprendendo e amadurecendo com seus conselhos. Muito obrigada professor. Grata de coração!

Agradeço a Soraia Baia Santos, que dividiu comigo suas experiências e conhecimentos, proporcionando meu primeiro contato em ambiente laboratorial com a linha de pesquisa que atuo. Grata de coração!

Agradeço ao João David Lisbôa por compartilhar comigo seus conhecimentos e experiências e por me ajudar sempre que precisei. Grata de coração!

Agradeço às técnicas do laboratório de Toxicologia, Jandira Oliveira e Mila Canto, por terem me acolhido e me guiado durante as atividades laboratoriais. Obrigada Mila pela companhia nas caminhadas do laboratório até a parada de ônibus. Grata de coração!

Agradeço às minhas parceiras na graduação, na ciência e na amizade, Daniela Andressa Viana e a Rafaela Moda dos Santos. Obrigada por todo auxílio e experiências compartilhadas dentro e fora da universidade. Grata de coração!

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a consolidação deste trabalho. Grata de coração!

Agradeço a Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação Tecnológica (PROPPIT), pelo auxílio financeiro através da concessão de bolsa de iniciação científica pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC).

Agradeço ao Programa Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão (PEEX) pela concessão de bolsa de ensino, pesquisa e extensão.

Agradeço à Universidade Federal Do Oeste Do Pará (UFOPA), pelo apoio institucional.

RESUMO

A espécie *Cyperus articulatus* L., conhecida popularmente com priprioca é bastante utilizada na medicina popular amazônica. Devido à carência de estudos realizados com o óleo essencial de *Cyperus articulatus*. (OECA) originários da região de Santarém, Oeste do Estado do Pará, este trabalho avaliou os possíveis efeitos anticonvulsivantes desta planta em juvenis de *Collossoma macropomum*. Assim, este estudo objetivou sistematizar os padrões de comportamento relacionados à atividade convulsivante induzida pelo fármaco Pentilenotetrazol (PTZ) nas concentrações de 5; 7,5; 10 e 15 mM em juvenis de tambaqui, e reversão pela ação do Diazepam e OECA. Para indução das crises epiléticas experimentais, os animais (n = 7 em cada grupo) foram expostos individualmente a 5; 7,5; 10 e 15 mM de PTZ, dissolvido em água tratada. O grupo controle foi exposto somente a água tratada. Dois grupos de animais foram expostos a 70,24 mM DZP por 40 minutos em um béquer contendo uma solução de 500 ml. Um grupo foi transferido para um aquário contendo 1500 ml penas de água tratada, para avaliar o efeito sedativo do DZP (controle DZP), e outro grupo para um tanque semelhante contendo 10 mM de solução PTZ (DZP /PTZ 10 mM); os animais foram colocados individualmente nos tanques e sua atividade comportamental foi registrada para uma única sessão de 20 minutos com o auxílio de uma câmera. Um grupo foi exposto a 0,005% (v/v) de OECA por 40 min em um béquer contendo 500 ml de água tratada. Posteriormente os animais foram transferidos individualmente para aquários contendo 1500 ml de água com 10mM de solução de PTZ (OECA/ 10mM PTZ), afim de registrar a atividade anticonvulsivante do OECA para uma única sessão, no tempo de 20 minutos. O perfil comportamental durante 20 min de imersão PTZ (5, 7,5, 10 e 15 mM) foi caracterizado por estágios numerados em: (0) nado curto, (1) atividade de natação aumentada e alta frequência de movimento opercular, (2) movimentos erráticos, (3) movimentos circulares, (4) comportamento convulsivo clônico, (5) queda no fundo do tanque e comportamento semelhante a convulsão tônica, (6) morte. Os animais expostos as maiores concentrações (10 e 15Mm) atingiram mais rapidamente os estágios 4 e 5. O pré-tratamento com DZP atenuou consideravelmente a gravidade das crises. O pré-tratamento como o OECA, assim como o DZP, reduziu consideravelmente as crises, demonstrando ótima atividade anticonvulsivante. De modo geral, os resultados mostraram uma caracterização comportamental temporal detalhada de um modelo de crise epilética PTZ em juvenis de tambaqui, bem como uma ação anticonvulsivante do OECA, o que demonstra seu potencial farmacológica anticonvulsivante.

Palavras-chaves: *Collossoma macropomum*. *Cyperus articulatus*. Convulsões.

ABSTRACT

The species *Cyperus articulatus* L., popularly known as priprioca, is widely used in Amazonian folk medicine. Due to the lack of studies carried out with the essential oil of *Cyperus articulatus* L. (OECA) originating in the region of Santarém, West of the State of Pará, this work evaluated the possible anticonvulsant effects of this plant in *Colossoma macropomum* juveniles. Thus, this study aimed to systematize the behavior patterns related to convulsive activity induced by the drug Pentylentetrazole (PTZ) in concentrations of 5; 7.5; 10 and 15mM in tambaqui juveniles, and reversal by the action of Diazepam and OECA. For the induction of experimental epileptic seizures, the animals (n = 7 in each group) were individually exposed to 5; 7.5; 10 and 15 mM PTZ, dissolved in water. The control group was only exposed to water from the system. Two groups of animals were exposed to 70.24mM DZP for 40 minutes in a beaker containing a 500 ml solution. One group was transferred to an aquarium containing 1500 ml of treated water only, to evaluate the sedative effect of DZP (DZP control), and another group to a similar tank containing 10 mM PTZ solution (DZP /PTZ 10 mM); the animals were placed individually in the tanks and their behavioral activity was recorded for a single 20-minute session with the aid of a camera. One group was exposed to 0.005% (v/v) OECA for 40 min in a beaker containing 500 ml of treated water. Subsequently, the animals were transferred individually to aquariums containing 1500 ml of water with 10mM PTZ solution (OECA/ 10mM PTZ), in order to record the anticonvulsant activity of OECA for a single session, within 20 minutes. The behavioral profile during 20 min of PTZ immersion (5, 7.5, 10 and 15 mM) was characterized by stages numbered in: (0) short swim, (1) increased swimming activity and high frequency of opercular movement, (2) erratic movements, (3) circling movements, (4) clonic seizure behavior, (5) falling to the bottom of the tank and tonic seizure-like behavior, (6) death. The animals exposed to the highest concentrations (10 and 15Mm) reached stages 4 and 5 more quickly. Pre-treatment with DZP considerably attenuated the severity of the crises. Pre-treatment such as OECA, as well as DZP, considerably reduced seizures, demonstrating excellent anticonvulsant activity. Overall, the results showed a detailed temporal behavioral characterization of a PTZ seizure model in tambaqui juveniles, as well as an anticonvulsant action of OECA, which makes it a potential new anticonvulsant drug.

Keywords: *Colossoma macropomum*. *Cyperus articulatus*. Epilepsies.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Fisiologia da neurotransmissão excitatória. Uma vez presente nos botões terminais do axônio, o impulso nervoso (a) (resultado da despolarização da membrana neuronal) permitirá a abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca^{2+}) presentes na célula, neste caso, a célula pré-sináptica ou glutamatérgica gerando um influxo de cálcio para dentro do citoplasma da célula pré-sináptica (b); a presença do cálcio irá carrear as vesículas contendo o neurotransmissor glutamato (c) e irá ativar a fusão das vesículas (d) com a membrana pré-sináptica com o auxílio de proteínas de ancoragem, resultando na exocitose do glutamato na fenda sináptica (e); ao ligar-se aos receptores ionotrópicos (NMDA e AMPA) da membrana pós-sináptica, o glutamato provocará a abertura dos canais iônicos (f) e permitirá a entrada de íons sódio (Na^+) e cálcio (Ca^{2+}) para dentro da célula pós-sináptica (g), resultando na despolarização da célula pós-sináptica e consequentemente a continuidade do impulso nervoso (h)16
- Figura 2** - Fisiologia da neurotransmissão inibitória. Uma vez presente nos botões terminais do axônio, o impulso nervoso (a) (resultado da despolarização da membrana neuronal) permitirá a abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca^{2+}) presentes na célula, neste caso, a célula gabaérgica gerando um influxo de cálcio para dentro do citoplasma da célula (b); a presença do cálcio irá carrear as vesículas contendo o neurotransmissor GABA (c) e irá ativar a fusão das vesículas (d) com a membrana do neurônio gabaérgico resultando na exocitose do GABA na fenda sináptica (e); ao ligar-se aos receptores ionotrópicos (GABA a) da membrana pós-sináptica, o GABA provocará a abertura dos canais iônicos (f) e permitirá a entrada do íon cloreto (Cl^-) para a célula pós-sináptica e saída de íons potássio (K^+) (g), resultando na hiperpolarização da célula pós-sináptica e inibição do impulso nervoso (h)17
- Figura 3** - *Cyperus articulatus* L. Escapos com flores nas extremidades21
- Figura 4** - Exemplar de juvenil de *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818)26
- Figura 5** - Biotério do Laboratório de Química Aplicada a Toxicologia da Ufopa27
- Figura 6** - A-C) Processos de limpeza; troca de água e medição dos parâmetros físico-químicos da água dos tanques respectivamente27
- Figura 7** - A) Óleo essencial da *Cyperus articulatus* L.; B) PTZ28
- Figura 8** - Tubérculos da *Cyperus articulatus* L29
- Figura 9** - Representação esquemática do protocolo experimental. A abordagem metodológica utilizada para avaliar o comportamento do tipo crise epiléptica (condições experimentais,

períodos de exposição, período de lavagem e avaliação de sobrevivência após testes comportamentais)	32
Figura 10 - Aparato de filmagem para análise comportamental dos peixes estudados	33
Figura 11 - (A, B, C e D) Perfil comportamental de convulsões induzidas por PTZ em juvenis de <i>Colossoma macropomum</i> . A principal característica do comportamento convulsivo induzido pelos tratamentos PTZ 5–15 mM durante 20 min (n = 7). Na pontuação das crises (considerou-se apenas a maior pontuação alcançada em cada intervalo)	39
Gráfico 1 - Perfil comportamental para 75µM DZP/ 10 Mm de PTZ	40
Gráfico 2 - Perfil comportamental para OECA / 10 Mm de PTZ	42
Gráfico 3 – A latência para marcar o início do estágio 4. Os dados da intensidade e latência das crises são representados como média ± o erro padrão da média e analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste de Bonferroni como post-hoc	42
Organograma 1 – Classificação básica dos tipos de crises convulsivas de acordo com a ILAE 2017	18
Quadro 1 – Classificação das drogas antiepilépticas	19
Quadro 2 – Propriedades farmacológicas da <i>Cyperus articulatus</i> L	22
Quadro 3 - Estágios comportamentais	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Analitos identificados no óleo essencial de <i>Cyperus articulatus</i>	37
--	----

LISTA DE SIGLAS

AMPA – ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico

ANOVA – análise de variância

CEUA – comitê de ética para uso de animais

DAE – droga antiepilética

DZP – Diazepam

GABA – ácido gama-aminobutírico

GC-MS – Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa

ILAE – International League Against Epilepsy

NMDA – N-metil-D-aspartato

OECA – óleo essencial de *Cyperus articulatus*

OMS – Organização Mundial da Saúde

PTZ – Pentilenotetrazol

UFOPA – Universidade Federal do Oeste do Pará

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Epilepsia	15
2.1.1 <i>Etiologia e fisiopatologia</i>	15
2.1.1 <i>Classificação e síndromes</i>	17
2.2 Produtos naturais	20
2.3 <i>Cyperus articulatos</i> L. (Priprioca)	21
2.4 Peixes como modelo animal para estudos comportamentais	23
2.4.1 <i>Colossoma macropomum (tambaqui)</i>	23
3 OBJETIVOS	25
3.1 Objetivo Geral	25
3.2 Objetivos Específicos	25
4 METODOLOGIA	26
4.1 Aspectos éticos	26
4.2 Organismo-teste	26
4.3 Aclimação e Manutenção	26
4.5 Coleta e identificação do material vegetal	29
4.6 Extração e caracterização química do Óleo essencial de <i>Cyperus articulatus</i>	30
4.7 Tratamentos experimentais	31
4.8 Análise comportamental	33
4.9 Lavagem e análise da sobrevivência	34
4.10 Estatística	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 Caracterização química do óleo essencial de <i>Cyperus articulatos</i>	36
5.2 Análises comportamentais e latência para atingir o estágio 4	38
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

A epilepsia é uma desordem neurológica crônica caracterizada por eventos recorrentes de crises convulsivas, que acometem os indivíduos portadores. Dependendo da dimensão da hiperatividade dos sinais cerebrais e propagação, diversos problemas graves podem ser gerados aos pacientes, como alterações sensitivas, emocionais ou cognitivas, lesões e transtornos mentais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Há, aproximadamente, mais de 50 milhões de pessoas no mundo todo que são diagnosticadas com epilepsia, sendo considerada uma das principais patologias crônicas cerebrais graves, além de possuir diversas etiologias (THIJS *et al.*, 2019). Não é uma doença transmissível, porém, pode desenvolver-se em todas as idades, sexo e condições socioeconômicas, além de afetar drasticamente a qualidade de vida dos indivíduos portadores (CARVALHO *et al.*, 2017).

Na tentativa de conter as crises epiléticas, os pacientes contam com uma gama diversa de drogas antiepiléticas (DAES), que buscam atenuar a atividade neuronal anormal, o que colabora para o controle ou redução do processo convulsivo. Porém, muitos desses fármacos apresentam efeitos adversos nos pacientes, sendo que os principais efeitos descritos para a maioria dos anticonvulsivantes atuais são riscos de isquemia, hepatotoxicidade, depressão, desordens cognitivas e impedimentos motores. Além disto, em uma parcela dos pacientes os resultados não são efetivos, considerando que cerca de 20% a 30% destes são resistentes aos tratamentos com drogas sintéticas (BASILIO; FERREIRA, 2019).

Assim, novos tratamentos emergentes do uso da etnofarmacologia tornam-se um caminho importante para reduzir as complicações ou efeitos adversos das drogas anticonvulsivantes. Espécies vegetais, tais como a *Cyperus articulatus* L., já possuem relatos na literatura como possuindo atividades ansiolíticas e anticonvulsivas (HERRERA-CALDERON *et al.*, 2018), assim, torna-se um potencial novo fármaco anticonvulsivo.

Aliado a isto, a escolha de modelos animais adequados para a realização de testes *in vivo*, proporcionam um entendimento mais abrangente a respeito dos mecanismos que precedem as crises convulsivas, além de serem essenciais na descoberta de novas substâncias farmacológicas, compreensão de seus mecanismos de ação, e sua eficácia (QUINTANS-JÚNIOR, *et al.*, 2004). Assim, modelos animais como peixes, emergem como novos modelos para avaliar os efeitos de drogas pró-convulsivantes (indutoras de episódios de convulsão) e anticonvulsivantes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Epilepsia

O termo epilepsia foi utilizado pela primeira vez por Avicena (980-1037), no século XI, e é originário do verbo grego “epilambanein” que significa ser tomado, atacado ou possuído. Este conceito sobre a epilepsia surgiu na Grécia antiga, há 400 anos a.C. e pela falta de conhecimento acerca da doença, os gregos e muitos outros povos associavam a epilepsia à problemas espirituais ou à loucura, embora Hipócrates já houvesse descrito a doença, como uma anomalia no cérebro e não de origem divina ou demoníaca (REKTOR *et al.*, 2013).

Com os avanços da neurofisiologia no século XIX, a epilepsia passou a ser vista pelo conhecimento científico como uma doença de origem cerebral. O neurologista britânico Jonh Hughings Jackson, foi um dos primeiros a propor uma base anatômica e fisiológica estruturada para a organização e localização das funções cerebrais, o que colaborou para uma busca no tratamento e a melhor compreensão sobre a doença (FERNANDES, 2013).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) há, aproximadamente, 50 milhões de pessoas no mundo são diagnosticadas com epilepsia, o que representa um problema de saúde pública, em todas as idades, gênero e grupos sociais (HERRERA-CALDERON *et al.*, 2018; MEDEIROS *et al.*, 2020).

Apesar de ser considerada uma doença global, apresenta distribuição desigual, considerando que aproximadamente 80% dos seus portadores residem em países subdesenvolvidos. Este fato é em parte explicado pela presença de alguns fatores de riscos que são mais recorrentes em regiões pobres, como doenças parasitárias (principalmente neurocisticercose), infecções intracranianas bacterianas ou virais, lesões cerebrais perinatais e traumatismos cranianos, além de um sistema de atenção à saúde escassa (ESPINOSA-JOVEL *et al.*, 2018).

2.1.1 Etiologia e fisiopatologia

A epilepsia é caracterizada como uma predisposição crônica do cérebro a gerar uma hiperatividade neuronal dos circuitos cerebrais que resultam em descargas elétricas excessivas e sincrônicas (crises convulsivas), e pelas consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais dessa condição (FISHER *et al.*, 2014). Abrange um grupo diverso de

doenças com etiologias, prognósticos e terapias diversos, onde sua fisiopatologia básica ainda não é totalmente compreendida (WYLLIE, 2015).

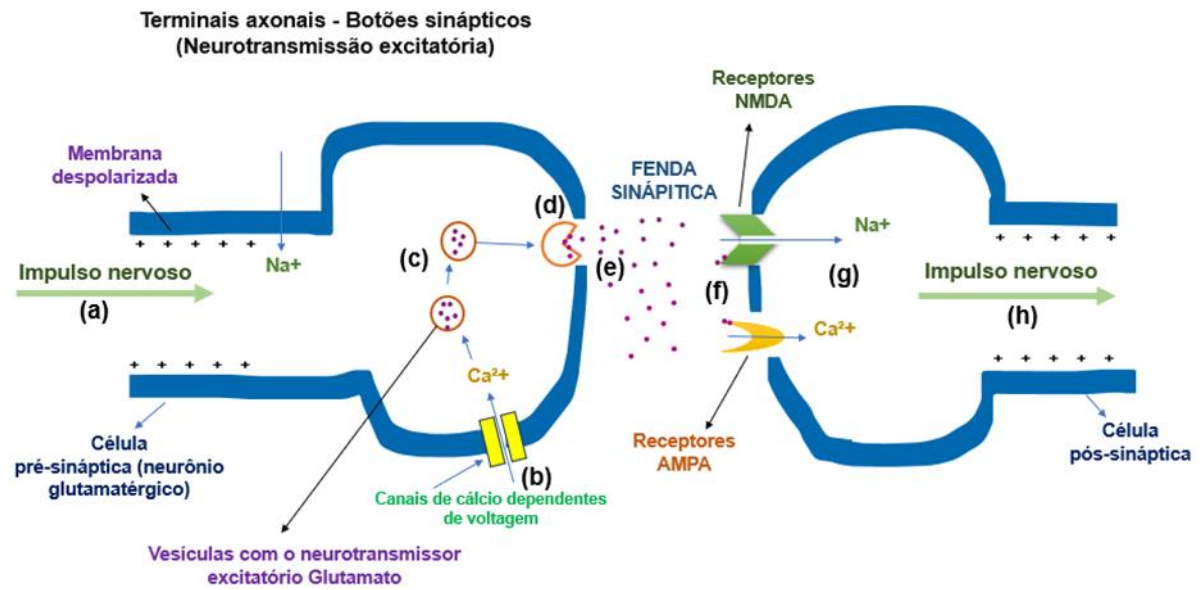
A etiologia da epilepsia pode ser genética ou esporádica, e pode estar ligado às anormalidades corticais congênitas, traumas, neurocisticercose, infecções, exposição a agentes tóxicos, processos degenerativos, processos vasculares que podem ocorrer em todas as idades, ou tumores cerebrais (FISHER *et al.*, 2005).

Acredita-se que as crises podem ser desencadeadas por vários mecanismos, mas se aceita que o princípio básico envolvido é um desequilíbrio entre fatores excitatórios e inibitórios. A partir disto, a fisiopatologia da epilepsia é conhecida pelo surgimento de despolarizações alteradas da membrana neuronal, alterações em canais iônicos ou morfologias neuronais. Estas alterações produzem um desequilíbrio na excitabilidade neuronal por meio de mudanças nos níveis de neurotransmissores excitatórios (Glutamato, sobretudo) (Figura 1) e inibitório (ácido gama- aminobutírico (GABA), sobretudo) (Figura 2).

O conjunto fisiopatológico acerca do processo convulsivo inclui, tanto mecanismos sinápticos que abrangem, principalmente, a diminuição da inibição GABAérgica e acionamento de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) através do glutamato. Já os mecanismos não sinápticos estão relacionados aos níveis de potássio extracelular, onde se encontra elevado junto às células piramidais corticais, o que colabora para a hiperativação neuronal. Portanto, a patologia surge quando existem fragilidades nestes dois sistemas, gerando um desequilíbrio por falta de contrabalanceamento conservado por neurônios inibitórios (MATOS *et al.*, 2017).

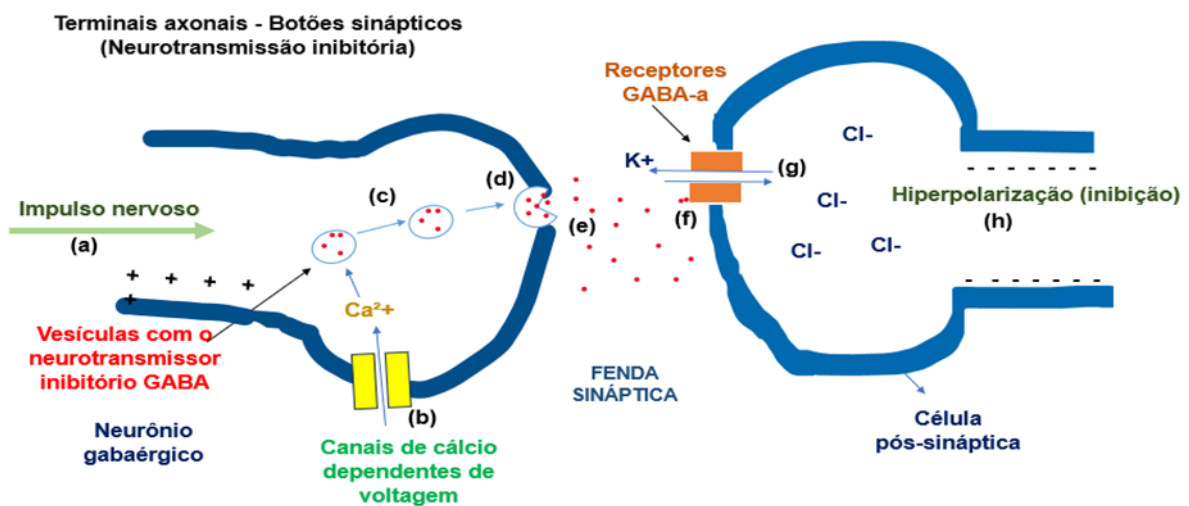
Consequentemente, as crises epiléticas podem levar à diversos danos cerebrais, afetando a consciência, memória, cognição, estado emocional, comportamento e as funções sensoriais, motoras e neurovegetativas. Vale ressaltar que nem todas as crises afetam todos estes fatores, mas todas afetam pelo menos um deles (FISHER *et al.*, 2005; HERRERA-CALDERON *et al.*, 2018).

Figura 1 - Fisiologia da neurotransmissão excitatória. Uma vez presente nos botões terminais do axônio, o impulso nervoso (a) (resultado da despolarização da membrana neuronal) permitirá a abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca^{2+}) presentes na célula, neste caso, a célula pré-sináptica ou glutamatérgica gerando um influxo de cálcio para dentro do citoplasma da célula pré-sináptica (b); a presença do cálcio irá carrear as vesículas contendo o neurotransmissor glutamato (c) e irá ativar a fusão das vesículas (d) com a membrana pré-sináptica com o auxílio de proteínas de ancoragem, resultando na exocitose do glutamato na fenda sináptica (e); ao ligar-se aos receptores ionotrópicos (NMDA e AMPA) da membrana pós-sináptica, o glutamato provocará a abertura dos canais iônicos (f) e permitirá a entrada de íons sódio (Na^+) e cálcio (Ca^{2+}) para dentro da célula pós-sináptica (g), resultando na despolarização da célula pós-sináptica e consequentemente a continuidade do impulso nervoso (h).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Figura 2 - Fisiologia da neurotransmissão inibitória. Uma vez presente nos botões terminais do axônio, o impulso nervoso (a) (resultado da despolarização da membrana neuronal) permitirá a abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca^{2+}) presentes na célula, neste caso, a célula gabaérgica gerando um influxo de cálcio para dentro do citoplasma da célula (b); a presença do cálcio irá carrear as vesículas contendo o neurotransmissor GABA (c) e irá ativar a fusão das vesículas (d) com a membrana do neurônio gabaérgico resultando na exocitose do GABA na fenda sináptica (e); ao ligar-se aos receptores ionotrópicos (GABA a) da membrana pós-sináptica, o GABA provocará a abertura dos canais iônicos (f) e permitirá a entrada do íon cloreto (Cl^-) para a célula pós-sináptica e saída de íons potássio (K^+) (g), resultando na hiperpolarização da célula pós-sináptica e inibição do impulso nervoso (h).



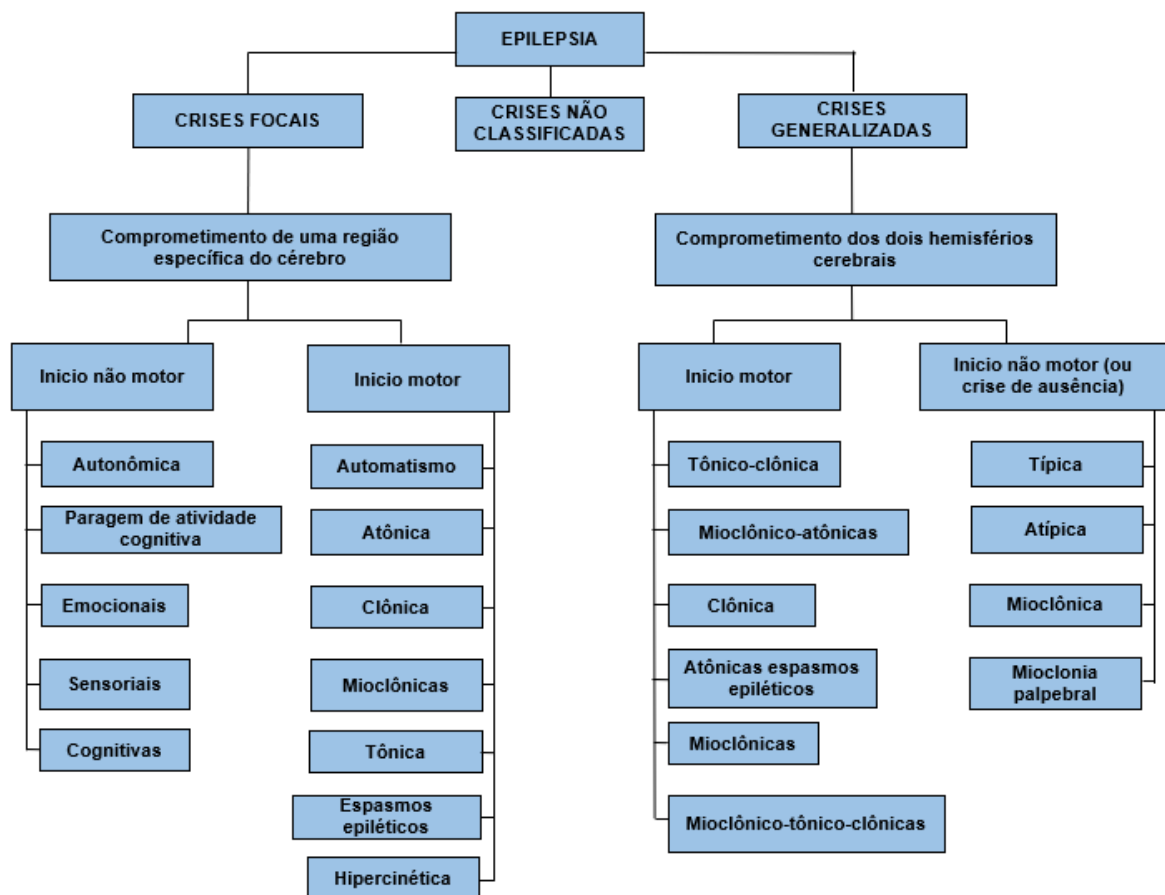
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

2.1.1 Classificação e síndromes

De acordo com a International League Against Epilepsy (ILAE), as crises epiléticas podem ser classificadas em: crises focais, crises generalizadas, crises de início desconhecido e crises não classificáveis, e dentro dessas categorias, existem subcategorias caracterizadas em sintomas motores e não motores (FISHER *et al.*, 2017).

A crise generalizada surge em algum ponto da rede neural propagando-se rapidamente para ambos os hemisférios cerebrais e normalmente não se sabe o local exato em que a crise se iniciou. Já na crise focal há evidências clínicas e eletrofisiológicas que apontam o local de início, e essas crises se restringe a uma porção de um hemisfério cerebral, porém, podem se tornar generalizadas a partir de sua propagação (MARANHÃO *et al.*, 2011). Em certos casos não é possível classificar uma crise epilética, tanto pela ausência de informações completas quanto pela natureza atípica da crise, neste caso, ela entra na categoria não classificada (Figura 3) (FISHER *et al.*, 2017).

Organograma 1 – Classificação básica dos tipos de crises convulsivas de acordo com a ILAE 2017.



Fonte: Adaptado de Fisher *et al.* (2017).

2.1.3 Tratamento farmacológico

A epilepsia altera profundamente a qualidade de vida do indivíduo portador e de seus familiares. Com isto, um bom diagnóstico é essencial para a busca de um tratamento adequado e eficaz. Normalmente, faz-se uma busca detalhada no histórico do paciente, para descobrir o tipo de crise e ou síndrome epilética que ele expressa, alguns fatores como, idade, tolerabilidade, comorbidades, segurança e eficácia das drogas antiepiléticas (DAES) também são cruciais para definir qual a terapia farmacológica mais conveniente a cada paciente (BERGEN, 2003).

O principal objetivo da terapia farmacológica é o controle completo das crises convulsivas, assim, existe uma ampla variedade de fármacos anticonvulsivantes para o tratamento da epilepsia, considerando que o mecanismo de ação de cada fármaco é específico para cada tipo de crise.

As DAES possuem uma ampla variedade de mecanismos de ação, como: redução da neurotransmissão glutamatérgicas nas sinapses, aumento da inibição sináptica mediada pelo GABA, efeito mediado por ação pré-sináptica ou pós-sináptica, bloqueio ou abertura de canais iônicos, além de outros mecanismos descritos no quadro 1 (MATOS *et al.*, 2017; BASÍLIO; FERREIRA, 2019).

Apesar, de existir uma gama de fármacos, cerca de 20% a 30% dos pacientes não conseguem obter um resultado que demonstre contenção total das crises. Estes pacientes podem apresentar apenas um controle parcial, e não remissão total das crises. Em casos assim a cirurgia torna-se uma opção viável (dentro da viabilidade de cada paciente).

Quadro 1 – Classificação das drogas antiepiléticas.

Drogas antiepilépticas (DAES)	Tipos de crises	Mecanismos de ação	Efeitos colaterais
Fenobarbital (tradicional)	Crises focais, generalizadas e estado de mal epilético	Liga-se aos sítios alostéricos dos receptores de GABA aumentando a neurotransmissão GABAérgica	Sedação, ataxia e hiperatividade
Fenitoína (tradicional)	Crises focais e generalizadas	Atua na membrana neuronal bloqueando os canais de sódio dependentes de voltagem	Sedação, ataxia, hiperplasia gengival (alguns casos) e hirsutismo
Carbamazepina (tradicional)	Crises focais e generalizadas	Inibição dos canais iônicos (sódio e cálcio)	Intolerância digestiva, sedação, ataxia, leucopenia, anemia aplástica, erupções cutâneas
Ácido valpróico (tradicional)	Crises generalizadas tônico clônicas, mioclônias, crises primárias generalizadas	Inibição fraca de 2 sistemas enzimáticos que inativa o GABA: GABA transaminase e a desidrogenase	Tremor, ganho de peso, dispepsia, náuseas, vômitos, anorexia, alopecia, edema periférico, encefalopatia
Benzodiazepínicos - clonazepam e diazepam (tradicional)	Crises de generalizadas, epilepsia fotomioclônica	Potencialização da neurotransmissão gabaérgica	Sonolência e reações paradoxais (excitação, agressividade e desinibição)
Felbamato (novo)	Crises focais e generalizadas	Bloqueio dos canais de sódio dependentes de voltagem	Totura, náuseas, sonolência e fadiga
Gabapentina (novo)	Crises focais	Aumento da síntese de GABA	Fadiga, cefaleia, febre e dor lombar e edema generalizado (alguns casos)
Lamotrigina (novo)	Vários tipos de crises	Bloqueio dos canais de sódio dependentes de voltagem	Erupções cutâneas e síndrome de stevens-johnson
Topiramato (novo)	Crises focais e generalizadas	Bloqueio dos canais de sódio, potencialização de receptores de glutamato	Nefrolitíase
Tigabina (novo)	Crises focais	Aumento da presença de GABA na fenda sináptica	Não possui efeitos colaterais significantes
Levetiracetam (novo)	Crises focais	Liga-se especificamente a proteína 2 A da vesícula sináptica (SV2A). Responsável pela fusão e excitação de neurotransmissores	Nasofaringite, sonolência e cefaleia
Zonisamida (novo)	Crises focais	Bloqueio dos canais de sódio e cálcio dependentes de voltagem	Nefrolitíase e perda de peso
Oxcarbamazepina (novo)	Crises focais	Bloqueio dos canais de sódio dependentes de voltagem	Hiponatremia

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

2.2 Produtos naturais

Os produtos naturais vêm sendo utilizados há gerações pelas populações amazônicas para diversas finalidades como, o tratamento, prevenção ou cura de enfermidades. Atualmente, estes produtos, especialmente plantas, estão ganhando um local de destaque nas pesquisas por novos tratamentos farmacológicos devido sua diversidade estrutural e por serem potenciais fontes de novos compostos bioativos (CAMARGO, 2005).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 80% da população mundial utilizam frequentemente espécies vegetais, sobretudo plantas, para tratar problemas de saúde, embora muitas das espécies utilizadas não apresentem comprovações

científicas a respeito de suas propriedades terapêuticas. Deste modo, novas pesquisas são essenciais na busca do entendimento farmacológico, uso terapêutico, eficácia, faixas de toxicidade e contraindicações, para que estas plantas medicinais sejam utilizadas de forma segura (MELO *et al.*, 2017).

2.3 *Cyperus articulatos* L. (Priprioca)

A espécie *Cyperus articulatus* L. é uma espécie vegetal da família *Cyperaceae*, e é encontrada em regiões de condições climáticas de alta umidade, tendo sua distribuição na América tropical e subtropical, e em alguns países da África, África do Sul (GORDON-GRAY *et al.*, 2006), e Camarões (BUM *et al.*, 2001). É uma espécie de capim alto e perene, que possui um rizoma endurecido, com tubérculos cobertos por brácteas; possui escapo cilíndrico e liso que pode medir de 30 a 43 cm de altura, além de possuírem flores agrupadas em espiguetas (Figura 3) (LOPES, 2023).

Figura 3 - *Cyperus articulatus* L. Escapos com flores nas extremidades.



Fonte: Jander Lopes (2022).

Atualmente, essa espécie tem grande destaque na indústria de cosméticos pela produção do óleo essencial (OE) oriundo de seus tubérculos, que é caracterizado pelo forte tom amarelado, além de possuir um odor intenso amadeirado e agradável (ZOGHBI *et al.*, 2008).

Além de suas várias utilidades na indústria de cosmético e perfumaria, a pripricoa é bastante utilizada na medicina tradicional para o tratamento de várias doenças como enxaqueca, diarreias entre outras doenças. Diversas propriedades terapêuticas e farmacológicas têm sido atribuídas à esta espécie, e evidenciados, tais como: o óleo essencial foi descrito com atividade antifúngica frente à *Candida albicans* (DUARTE *et al.*, 2005); o extrato aquoso foi descrito por promover facilitação da indução do sono e aumento do tempo total do sono, bem como diminuição da atividade locomotora espontânea em camundongos (RAKOTONIRINA *et al.*, 2001).

Possui atividade antibacteriana à *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (MONGELLI *et al.*, 1995; DESMACHELIER *et al.*, 1997; DUARTE *et al.* 2006); atividade anti-inflamatória e antiplasmódica in vitro, antimalárica in vivo do óleo essencial de *C. articulatus* L. (SILVA *et al.*, 2019); ação inseticida à *Trilobium confusum* (ABUBAKAR *et al.*, 2000). Seu extrato aquoso também possui propriedades sedativas e anticonvulsivante (BUM *et al.*, 2004; HERRERA-CALDERON *et al.*, 2018); propriedade anti enxaqueca (contra a migrânea), dores de cabeça e epilepsia também são citados como tratados com essa planta (BUM *et al.*, 2001), bem como outras propriedades descritas na figura 4.

Quadro 2 – Propriedades farmacológicas da *Cyperus articulatus* L.

Propriedades farmacológicas			
Atividade	Parte da planta usada	Metabólito relacionado	Fonte
Propriedades sedativas	Decocção de rizomas	Flavonóides, saponinas, açúcares, triterpeno e poliuronídeos	Rukanga <i>et al.</i> (2008), Rakotonirina <i>et al.</i> (2001)
Efeito no sistema nervoso central	Rizomas em pó	Metabólito desconhecido	Ngo Bum <i>et al.</i> (2001)
Atividade antimicrobiana	Extrato etanólico e clorofórmio de rizomas	Compostos α e β -pineno	Yusuf <i>et al.</i> (2012), Freires <i>et al.</i> (2015)
Propriedades antioxidantes	Óleo essencial	Compostos fenólicos	Singer <i>et al.</i> (2003), Lapornik <i>et al.</i> (2005)
Atividade anticonvulsivante	Extrato de rizomas	Compostos alcaloides	Herrera-Calderon <i>et al.</i> (2017)
Atividade antimalárica	Extrato clorofórmio de rizomas	Ciperotundona, alfa-ciperona, mustacona	Rakotonirina <i>et al.</i> (2001), Ohahima <i>et al.</i> (1998)
Função hepatoprotetora	Extrato metanólico de rizoma	Metabólito desconhecido	Datta <i>et al.</i> (2013)
Efeito anticoncepcional	Extrato aquoso de rizomas	Metabólito desconhecido	Eniola <i>et al.</i> (2011)
Atividade anticancerígena	Óleo essencial	Compostos sesquiterpeno e um monoterpeno	Kavaz <i>et al.</i> (2019)

Fonte: Adaptado de Machado *et al.* (2020)

2.4 Peixes como modelo animal para estudos comportamentais

A importância dos modelos animais pode ser determinada pelo grau em que ele se adequa como testemunho de um fenômeno natural. Tendo em vista isto, a diversidade desses modelos experimentais pode gerar perspectivas que permitem a compreensão abrangente dos fenômenos que caracterizam diversas doenças que ainda não possuem suas bases celulares totalmente conhecidas, como é o exemplo das epilepsias (QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2004).

O uso destes modelos é essencial em estágios pré-clínicos, a fim de se estabelecer a eficácia e segurança dos novos tratamentos antes dos testes em humanos. Estes modelos são utilizados para diferentes finalidades, tais como, para a identificação de novas substâncias, e, para a caracterização do espectro de ação destas substâncias, além de testar a eficácia dos diversos fármacos.

Diante deste contexto, os modelos animais como peixes, emergem como novos modelos para avaliar os efeitos de potenciais drogas anticonvulsivantes, e drogas pró-convulsivantes (indutoras de episódios de convulsão). Os peixes, tais como o zebrafish (*Danio rerio*), por exemplo, apresentam uma homologia genética com o ser humano de aproximadamente 70%, e mostram-se como modelos com potencial não discriminatório para drogas antiepilépticas, em contraste com os de roedores em que usualmente as convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) foram usadas para identificar agentes anticonvulsivantes que atuam principalmente através do GABA (MUSSULINI *et al.*, 2013).

Apesar dos estudos com zebrafish, ainda são poucos os estudos que utilizam peixes de água doce como modelos experimentais, além de ainda ser raso o conhecimento a respeito das respostas biológicas destas espécies (RAMSDORF, 2011). Diante disso, o *Colossoma macropomum*, outra espécie de peixe de água doce, tem emergido como um excelente modelo experimental (AMORIM, 2014).

2.4.1 *Colossoma macropomum* (tambaqui)

Descrito por George Cuvier em 1816, o *Colossoma macropomun* conhecido popularmente como Tambaqui, é uma espécie de peixe nativa dos rios Amazonas, Orinoco e seus afluentes. Pertence a classe Actinopterygii, ordem Characiforme e família Serrasalminae, sendo o maior Characiforme da bacia amazônica (BUCKUP *et al.*, 2007). Em ambiente natural

o tambaqui é capaz de atingir até 1 metro de comprimento total e pesar em torno de 30 kg, sendo considerado um peixe de grande porte (GOULDING; CARVALHO, 1982).

As características ecológicas desta espécie apresentam comportamento migratório de reprodução (piracema); dieta onívora composta de frutos, sementes, caramujos, zooplâncton e fitoplâncton (SANTOS *et al.*, 2006; GUIMARÃES, 2009). Em cativeiro, por ser uma espécie onívora, tem grande facilidade para digerir proteína animal e vegetal, além de adaptar-se facilmente a ração artificial (NUNES *et al.*, 2006).

O tambaqui possui hábito diurno e tem bom desenvolvimento em criações de várias regiões do Brasil com clima quente e boa luminosidade. Na natureza, tem preferência por águas ricas em nutrientes, em condições físico-químicas estáveis, com temperaturas que variam de 25 a 34°C e pH variando entre 7 e 8 (IZEL *et al.*, 2014). Nessas águas as concentrações de oxigênio dissolvido são superiores a 4 mg/L, porém, essa espécie demonstra alta tolerância a níveis baixos que podem variar entre 3,0 a 1,0 mg/L (ARAÚJO-LIMA; GOMES, 2005). Em ambientes de cultivo o *C. macropomum* apresenta bom desenvolvimento em águas com alcalinidade e dureza acima de 29 mg/L e temperaturas entre 27 e 30°C. Segundo Aride *et al.* (2007) o tambaqui também têm alta tolerância a ambientes de água ácida (ph entre 4,0 e 6,5), apresentando algumas adaptações que vão desde regulação iônica a ajustes hematológicos maior produção de muco.

Além de possuir grande importância econômica, o *Colossoma macropomum*, tem se destacado como modelo animal em estudos científicos nas áreas de toxicologia, comportamental e anestesia por apresentar diversas vantagens como: grande facilidade de obtenção de juvenis, fácil manejo, bom potencial de crescimento, excelente adaptação e alta sensibilidade a substâncias químicas (CUNHA; SANTOS, 2011). A partir disto, torna-se um potencial “animal modelo” para os estudos comportamentais, na caracterização de alterações de comportamento para elucidação complementar sobre os efeitos de fármacos, e substâncias com mecanismos de ação ainda não conhecidos (ARANHA, 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliação da atividade farmacológica anticonvulsivante do Óleo Essencial de *Cyperus articulatus* (pripriooca) em juvenis de tambaqui.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a composição química do óleo essencial de *Cyperus articulatus* e comparar com dados já presentes na literatura científica.
- Avaliar a atividade farmacológica anticonvulsivante do óleo essencial de *Cyperus articulatus* em juvenis de tambaqui utilizando o modelo de epilepsia induzido por Pentilenotetrazol (PTZ).
- Validar o protocolo de atividade convulsivante em juvenis de tambaqui utilizando o modelo de epilepsia induzido por Pentilenotetrazol (PTZ).

4 METODOLOGIA

4.1 Aspectos éticos

Este estudo encontra-se aprovado sob o protocolo de N° 0120190052, pelo Comitê de Ética para Uso de Animais – CEUA, da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA).

4.2 Organismo-teste

Foram obtidos 100 juvenis da espécie *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818), via compra, na Fazenda de Piscicultura Brasil, situado na Rodovia Everaldo Martins, S/N, Santarém - PA. Para realização dos experimentos, foram utilizados um total de 63 juvenis com comprimento de 3 a 5 centímetros.

Figura 4 - Exemplar de juvenil de *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818).



Fonte: Autor (2023).

4.3 Aclimação e Manutenção

Antes dos procedimentos experimentais os animais foram aclimatados em tanques contendo água tratada no biotério do Laboratório de Química Aplicada a Toxicologia da Ufopa, Campus Tapajós (Figura 5).

Figura 5 - Biotério do Laboratório de Química Aplicada a Toxicologia da Ufopa

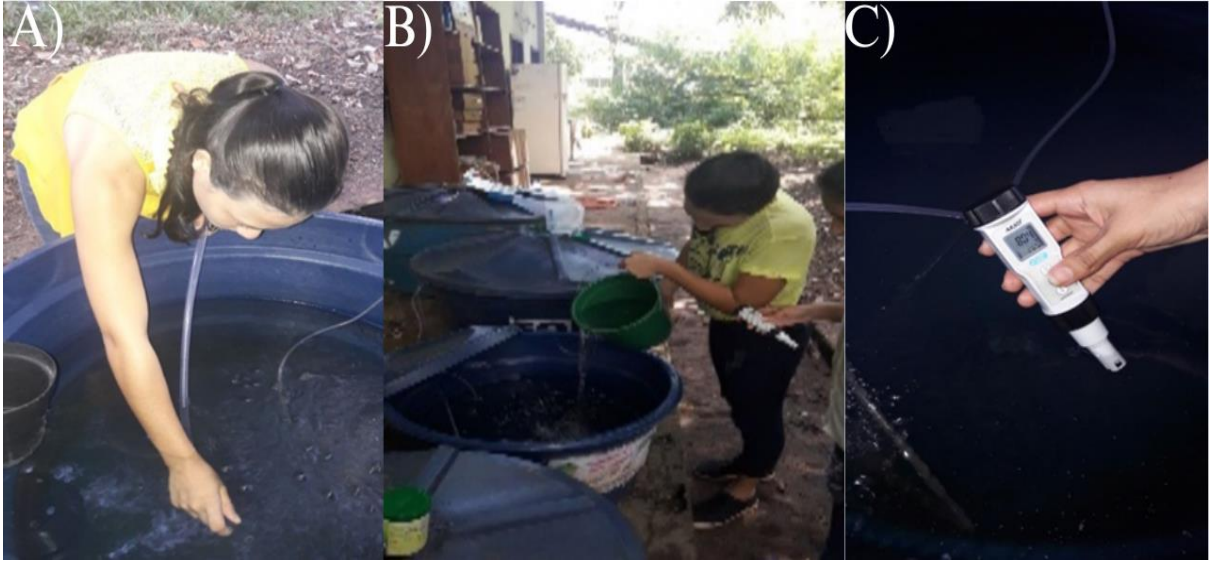


Fonte: Autor (2023).

O lote de animais foi aclimatado em tanques de 500L, em ambiente aberto, garantindo o fotoperíodo natural, previamente desinfetados (afim de eliminar microrganismos que possam afetar o bem-estar dos animais e consequentemente os resultados dos experimentos), equipados com bombas de recirculação e sistema de aeração conectadas a pedras porosas.

A limpeza dos tanques ocorreu diariamente para a retirada de dejetos e resíduos alimentares produzidos pelos animais. Nesse processo, cerca de 20% do volume da água era substituído por água previamente tratada com Bicarbonato de Sódio (NaHCO_3) afim de manter o pH adequado ($\text{pH}=7\pm 0,5$) para o bem-estar dos animais, com temperatura de 26 ± 1 °C. Os animais foram alimentados diariamente até 24 horas antes do início dos experimentos para que os rejeitos não interferissem no pH e concentração de amônia na água.

Figura 6 - A-C) Processos de limpeza; troca de água e medição dos parâmetros físico-químicos da água dos tanques respectivamente.

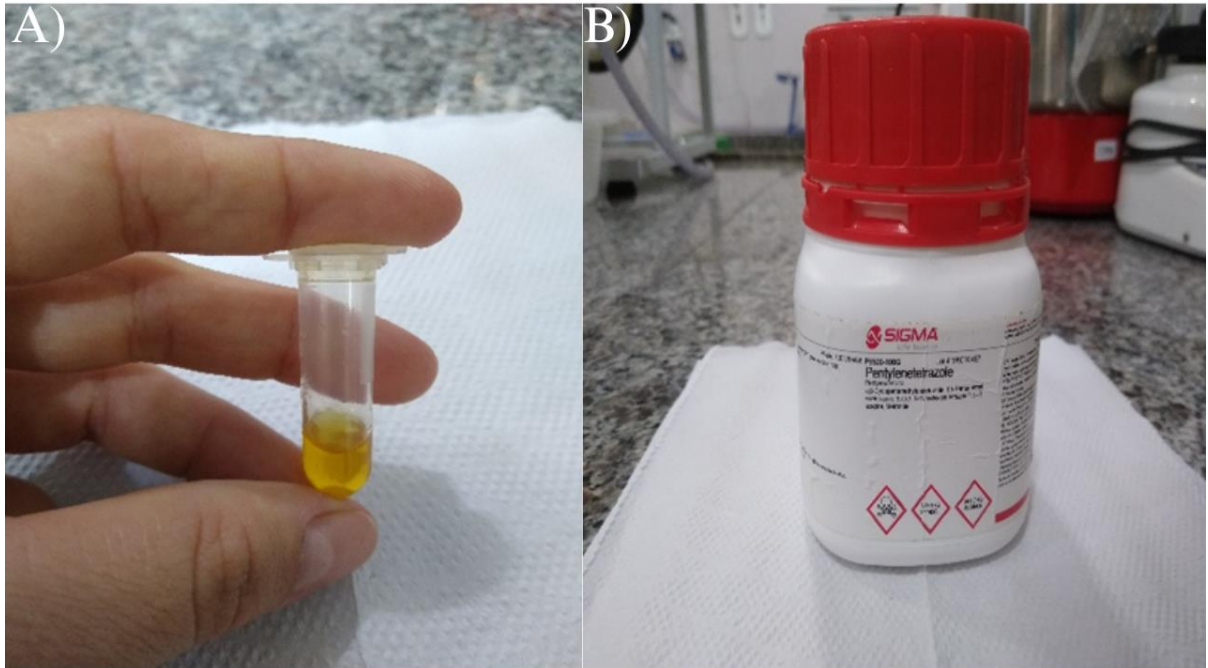


Fonte: Autor (2023).

4.4 Drogas e soluções

Como soluções controles foram utilizados: o pentilenotetrazol (SIGMA Life Science, P6500-100g, Lote:MKCH1462), fármaco padrão para indução de crises epiléticas em estudos com modelos animais; o Diazepam (Produto Comercial produzido pela Neo-química), fármaco ansiolítico, relaxante muscular e anticonvulsivante, indicado para o tratamento de ansiedade, agitação e espasmos musculares; para solução teste foi utilizado o óleo essencial de *Cyperus articulatus*, como solução anticonvulsivante cedido por Lopes (2023) ; tween 80, para ajudar na diluição do óleo; e água tratada para aquário (água com ausência de contaminates e com condições físico-químicas adequadas para o experimento).

Figura 7 - A) Óleo essencial da *Cyperus articulatus* L.; B) PTZ.



Fonte: Autor (2023).

4.5 Coleta e identificação do material vegetal

A coleta e preparo do material vegetal da espécie *Cyperus articulatus* L., foi feito por Lopes (2023). O material vegetal foi procedente da Fazenda Experimental da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), localizada às margens da Rodovia Santarém-Curuá-Una (PA-370), km 37, no município de Santarém-PA, Brasil (“latitude 3° S 07’ 36,2528517843”, longitude 54° W 99’ 59,896691144”). A espécie foi identificada pelo botânico Dr. Antônio Elielson Sousa da Rocha, da Universidade Federal do Pará (UFPA), e uma exsicata foi depositada no herbário da mesma universidade com registro MG 207174.

Figura 8 - Tubérculos da *Cyperus articulatos* L.



Fonte: Jander Lopes (2022).

Após a coleta do material botânico, foi realizada a lavagem dos rizomas da *Cyperus articulatus* L., com água corrente, seguida da remoção de partes que compõem o rizoma e que não contém óleo essencial como, por exemplo, pequenas raízes e resíduos do cultivo e terra. Após a limpeza do material vegetal, os rizomas da *C. articulatus* L., foram colocados para secagem em estufa a 40 C° para retirada do excesso de água, por um período de 72 horas.

4.6 Extração e caracterização química do Óleo essencial de *Cyperus articulatus*

A extração do óleo essencial da *C. articulatus* L. (OECA) foi feita por Lopes (2023), o material vegetal triturado foi submetido à hidrodestilação por arraste a vapor, em uma dorna de 150 L, com duração de 6 horas.

A caracterização química foi realizada por Lopes (2023), pelo método de Cromatografia gasosa acoplada Espectrometria de Massa (GC-MS) na Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da Universidade de Campinas – São Paulo (UNICAMP). Esta caracterização química foi realizada em um cromatógrafo a gás Agilent, modelo HP-6890 equipado com um detector seletivo de massas Agilent, modelo HP-5975 utilizando uma coluna capilar HP-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) nas seguintes condições: temperatura do injetor =

220°C, detector = 250°C, coluna = 60°C, 3C. min⁻¹, 240C e Hélio como gás de arraste na vazão de 1mL/min. Os compostos majoritários foram identificados por comparação entre os índices de retenção (IR) das substâncias investigadas com os IR disponíveis na Literatura, utilizando a biblioteca NIST. Parte do óleo essencial obtido por Lopes (2023), foi cedida para utilização nos experimentos do presente estudo.

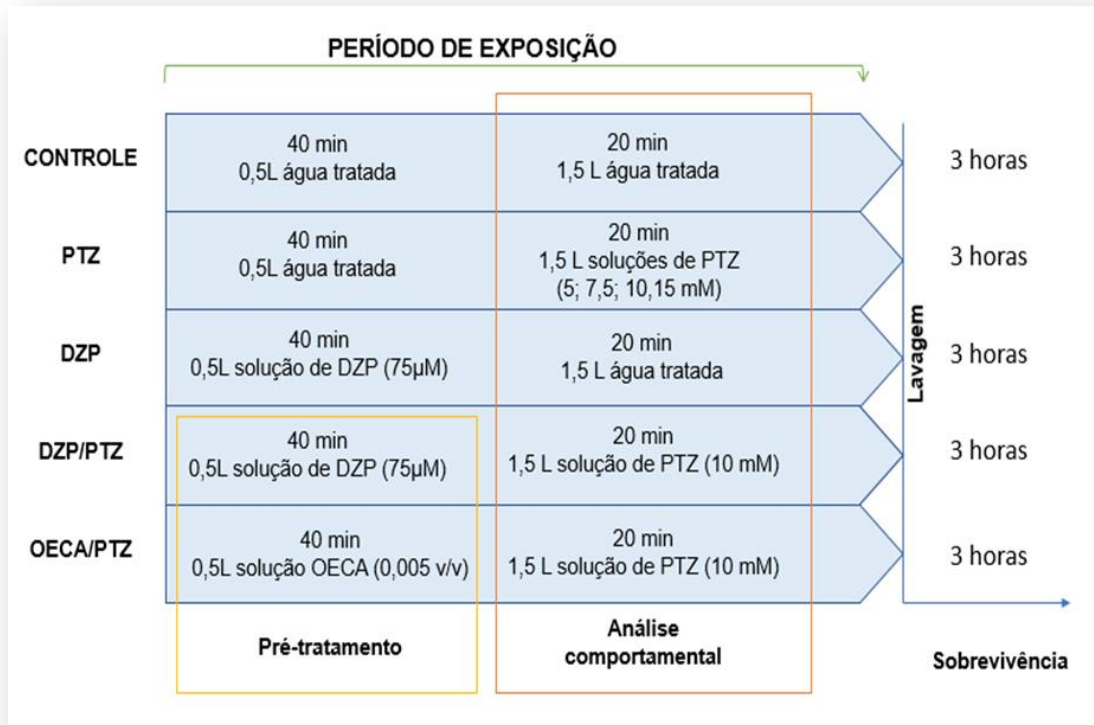
4.7 Tratamentos experimentais

Para induzir crises epilépticas experimentais, os animais (n = 7 em cada grupo) foram individualmente expostos a 5; 7,5; 10 e 15 mM de PTZ diluídos previamente em água tratada. Todas as concentrações de PTZ e o tempo de exposição foram baseados em relatos prévios descritos na literatura (MUSSULINI *et al.*, 2013) para induzir respostas de crises semelhantes. O grupo controle foi exposto apenas à água tratada, ou seja, isenta de toxicante. A fim de investigar o efeito de um DAE clássico nas convulsões induzidas por PTZ em *Collossoma macropomum*, utilizou-se um modulador alostérico GABAA positivo, o diazepam (DZP).

Dois grupos de animais foram expostos a 70,24mM de DZP por 40 min em um béquer contendo 500 ml de água tratada. Posteriormente, os animais foram rapidamente transferidos para um béquer contendo água tratada para remover o excesso de DZP. Um grupo foi ainda transferido para um aquário com água tratada para investigar o efeito sedativo de DZP (grupo de controle DZP) e outro grupo para um aquário semelhante contendo solução de PTZ da concentração 10mM (DZP / grupo PTZ 10mM). O aquário continha 1500 ml de água com 10mM de solução de PTZ ou água tratada. A fim de manter as condições experimentais, os animais foram manipulados aleatoriamente a partir de seus tanques de origem e transferidos individualmente para béqueres contendo 500 ml apenas com água tratada (isenta de toxicante), durante o mesmo período de pré-tratamento do DZP (40min). Os animais foram, cuidadosamente, colocados individualmente nos aquários, e a sua atividade convulsiva comportamental foi registrada para uma única sessão, no tempo de 20 minutos.

Um grupo de animais foi exposto em 0,005% (v/v) de OECA por 40 min em um béquer contendo 500 ml de água tratada. Posteriormente os animais foram transferidos individualmente para aquários contendo 1500 ml de água com 10mM de solução de PTZ, afim de registrar a atividade anticonvulsivante do OECA para uma única sessão, no tempo de 20 minutos.

Figura 9 - Representação esquemática do protocolo experimental. A abordagem metodológica utilizada para avaliar o comportamento do tipo crise epiléptica (condições experimentais, períodos de exposição, período de lavagem e avaliação de sobrevivência após testes comportamentais).



Fonte: Adaptado do protocolo experimental utilizado por Mussulini *et al.* (2013).

Os ensaios foram realizados com 7 animais em cada grupo. Em cada ensaio, cada peixe foi colocado individualmente na solução de tratamento determinado, e não foi utilizado em subseqüente. Todos os procedimentos experimentais foram realizados em uma sala adaptada às condições ambientais necessárias para os ensaios. Uma câmera de monitoramento foi instalada e ajustada à distância de 30cm do tanque de teste para garantir o registro de filmagens sobre a localização e a atividade de natação do peixe na coluna d'água. A parede e o fundo do aquário foram revestidos externamente com material na cor branca, para garantir contraste entre o plano de fundo do ambiente (aquário) e o animal, a fim de otimizar as análises posteriores das imagens dos vídeos (Figura 10). Todos os procedimentos experimentais foram realizados cautelosamente, a fim de minimizar o estresse dos animais, e possibilitar a coleta de dados sobre possíveis respostas comportamentais representativas. Assim, ao longo dos experimentos, os peixes foram cuidadosamente transferidos entre tanques de aclimação, béqueres e aquários. Todos os peixes foram manuseados e testados de maneira semelhante, ou seja, de modo padronizado. Logo, os comportamentos foram registrados na mesma sala, o que

manteve a manipulação, qualidade da água e iluminação uniforme e constante entre as tentativas.

Figura 10 - Aparato de filmagem para análise comportamental dos peixes estudados.



Fonte: Autor (2023).

4.8 Análise comportamental

A análise comportamental foi realizada com base no protocolo experimental utilizado por Mussulini *et al.* (2013), no qual os peixes ($n = 7$) foram colocados em uma solução de PTZ (5; 7,5; 10 e 15mM) e monitorados por 60 minutos para avaliar os comportamentos relacionado a indução de convulsões. Para caracterizar cada estágio, as manifestações comportamentais foram avaliadas de acordo com a literatura e a sequência de manifestações comportamentais descritas usando desde a menor a maior concentração de PTZ testada nos experimentos, para cada estágio, foi atribuído uma pontuação específica, descrita no quadro 3.

Quadro 3 - Estágios comportamentais.

PONTUAÇÃO	COMPORTAMENTO
0	Natação curta, principalmente no fundo do tanque.
1	Aumento da atividade de natação e alta frequência de movimentos operculares.
2	Natação rápida, com movimentos do lado esquerdo e lado direito e movimentos irregulares.
3	Movimentos circulares.
4	Comportamento tipo convulsão clônica (contração muscular rítmica anormal do corpo inteiro).
5	Queda para o fundo do tanque, comportamento semelhante à convulsão tônica (afundando no tanque, perda de postura corporal e principalmente por extensão rígida do corpo).
6	Morte.

Fonte: Mussulini *et al.* (2013).

4.9 Lavagem e análise da sobrevivência

Após a exposição ao PTZ, os peixes foram transferidos para béqueres contendo apenas água tratada para eliminar todo o PTZ residual em contato com o animal. Imediatamente depois, o peixe foi transferido para outro béquer com uma nova água limpa do sistema para avaliar o período de lavagem. Durante a lavagem do PTZ, foram observados grupos por mais três horas, para determinar a latência para retornar à pontuação 0. Considerou-se que o animal retornou completamente ao comportamento basal quando atingiu a pontuação 0 e permaneceu nessa pontuação até o final das 3 horas, e posteriormente registrado por mais 2 min se houve ou não a recuperação do animal.

4.10 Estatística

Os dados não paramétricos dos estágios de crises foram expressos como mediana de 6 intervalos interquartis. Os gráficos de dispersão foram projetados para permitir a análise de variância ao longo do tempo realizada pelo teste de Friedman seguido pelo teste de Comparação Múltipla de Dunn como post hoc. A latência foi representada como média \pm o erro padrão da média e analisados pela ANOVA de uma via seguida pelo teste de Bonferroni como post hoc.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização química do óleo essencial de *Cyperus articulatus*

A caracterização química do óleo essencial de *Cyperus articulatus* obtida por Lopes (2023), apresentou 99,83% dos compostos, sendo que apenas 69,04% foi possível a identificação e desde percentual identificou-se que 0,89% são monoterpenos não-oxigenados, 4,22% monoterpenos oxigenados, 23,71% sesquiterpenos não-oxigenados e 40,22% sesquiterpenos oxigenados. Foram considerados substâncias majoritárias as substâncias com percentuais de concentração maiores que 2,5 %, sendo a mustacona (21,43%), ciclocolorenona (11,94%), cis-tujopsenal (7,70%), beta-selineno (4,00 %), ciperotundona (3,8 %), óxido de cariofileno (2,99%) e alfa-copaeno (2,87%), além de dois compostos não identificados com concentrações de 2,86% e 3,88% respectivamente. Na tabela 1 estão os constituintes majoritários identificados com sua molécula estrutural, percentual na amostra, e tempo de retenção em minutos.

Tabela 1 - Analitos identificados no óleo essencial de *Cyperus articulatus*.

TR (MIN)	IR	IDENTIFICAÇÃO	% REL.
5,33	931	alfa-pineno	0,72
6,43	975	beta-pineno	0,17
11,93	1136	trans-pinocarveol	0,43
12,17	1142	trans-verbenol	0,17
13,80	1183	para-cimen-8-ol	0,65
14,02	1188	alfa-terpineol	0,29
14,25	1194	Mirtenol	0,72
14,77	1207	Verbenona	1,76
15,17	1216	trans-carveol	0,20
21,32	1363	Ciclosativeno	0,50
21,71	1372	alfa-copaeno	2,87
22,37	1388	beta-elemenol	0,20
22,63	1395	Cipereno	1,37
22,89	1401	M = 202	1,03
24,24	1434	alfa-guaieno	0,45
25,01	1453	Rotundeno	0,79
25,57	1467	M = 220	0,26
25,76	1472	gama-muuroleno	1,11
26,15	1482	beta-selineno	4,00
26,48	1490	alfa-selineno	0,89
26,65	1494	M = 220	1,34
26,93	1501	alfa-bulneseno	1,50
27,60	1518	M = 220	0,92
27,74	1522	M = 220	0,28
27,95	1528	M = 220	0,66
28,35	1538	alfa-calacoreno	1,32
28,69	1547	M = 220	0,52
29,34	1564	M = 220	1,46

29,87	1578	óxido de cariofileno	2,99
30,06	1583	M = 220	2,31
30,86	1604	M = 220	1,21
31,09	1610	M = 220	1,46
31,23	1614	M = 218	1,43
31,53	1622	M = 218	1,93
31,88	1631	M = 220	1,97
32,04	1636	M = 220	1,55
32,38	1645	M = 220	0,99
32,58	1650	M = 204	3,88
32,78	1655	M = 218	2,42
32,99	1661	M = 220	1,26
33,15	1665	n.i.	1,01
33,55	1676	Mustacona	21,43
34,03	1689	Ciperotundona	3,86
34,34	1698	M = 218	2,86
34,61	1705	cis-tujopsenal	7,70
35,57	1733	M = 234	1,22
36,07	1747	Ciclocolorenona	11,94
Total identificado (%)			99,83

Fonte: Jander Lopes (2022).

Estudos realizados por Zogbhi *et al.* (2006), revelaram altos teores de mustacona em óleos essenciais de *C. articulatus* cultivado no Pará. Portanto, os resultados encontrados condizem com o relatado em literatura, apesar de não apresentarem necessariamente percentuais idênticos.

Ademais, o óleo essencial extraído de plantas da mesma família Cyperaceae em alguns países Africanos (Nigéria e Camarões), apresentam vários outros constituintes majoritários distintos, ainda que no grupo de sesquiterpenos e monoterpenos, tipo trans-pinocarveol, beta-pineno, verbeol, gama-patchuleno, cariofileno, também cadinol e cedrol (HASSANEIN *et al.*, 2014; METUGE *et al.*, 2014; KAVAZ *et al.*, 2019). Essa distinção mostra a versatilidade na composição química dos óleos essenciais de uma mesma espécie, essas variações podem ser resultado de diversos fatores como: localização geográfica, tipo ou PH do solo, as fases do vegetal, sazonalidade, luminosidade em que o vegetal se localiza, quantidade de água recebida, temperatura, além de outras condições ambientais que são capazes de modificar a composição química dos óleos essenciais (SILVA *et al.*, 2019).

Dentre as substâncias identificadas, inúmeros estudos constataram as propriedades farmacológicas dos sesquiterpenos. Rukunga *et al.*, (2008), avaliou atividades antiplasmodiais dos compostos sesquiterpênicos obtido através de extrato clorofórmico dos rizomas de *Cyperus articulatus*, sendo a (corimbolona e mustakona), onde a mustakona demonstrou ser 10 vezes mais ativo contra a cepas sensíveis do *Plasmodium falciparum* em relação a corimbolona. Azzaz *et al.*, (2014) demonstraram em seus estudos que os compostos sesquiterpenos e o

monoterpenos presentes no óleo essencial da *Cyperus articulatus* possuem importância significativa para atividade antimicrobiana, além de expressarem grande ação antifúngica, que foi presenciada contra *Candida albicans*. Compostos como o alfa-pineno e beta-pineno (monoterpenos), alfa terpineol (álcool monoterpeno), alfa-copaeno (serquiterpeno), além do óxido de cariofileno (serquiterpeno), estão presentes nos compostos dos óleos essenciais *Hypericum perforatum* (Erva-de-São João) indicado no tratamento dos estados depressivos leves a moderados (NUNES, 2018). *Passiflora incarnata* L. (Flor da paixão) utilizado para tratamento de distúrbios do sono e ansiedade (DA SILVA *et al.*, 2021). *Melissa Officinalis* L. (Erva-cidreira) usado em sintomas de ansiedade leve, *Lavandula angustifolia* (lavanda) é usado devido sua atividade ansiolítica (PEREIRA *et al.*, 2021).

É importante ressaltar, que esses compostos químicos citados acima também estão presentes em pequenas frações na composição do óleo essencial da *Cyperus articulatus* achados no presente estudo, isto é, esses constituintes encontrados em pequena ou em grande proporção, apresentam importância significativa para as atividades apresentadas.

5.2 Análises comportamentais e latência para atingir o estágio 4

A análise comportamental dos juvenis mostrou que o grupo controle exibiu movimentos espontâneos de natação típicos constituído de nadadas curtas e movimento opercular pouco acelerado (dados não mostrados). Por outro lado, os animais expostos as diferentes concentrações de PTZ, apresentaram o perfil comportamental de crises epiléticas representados em diferentes estágios.

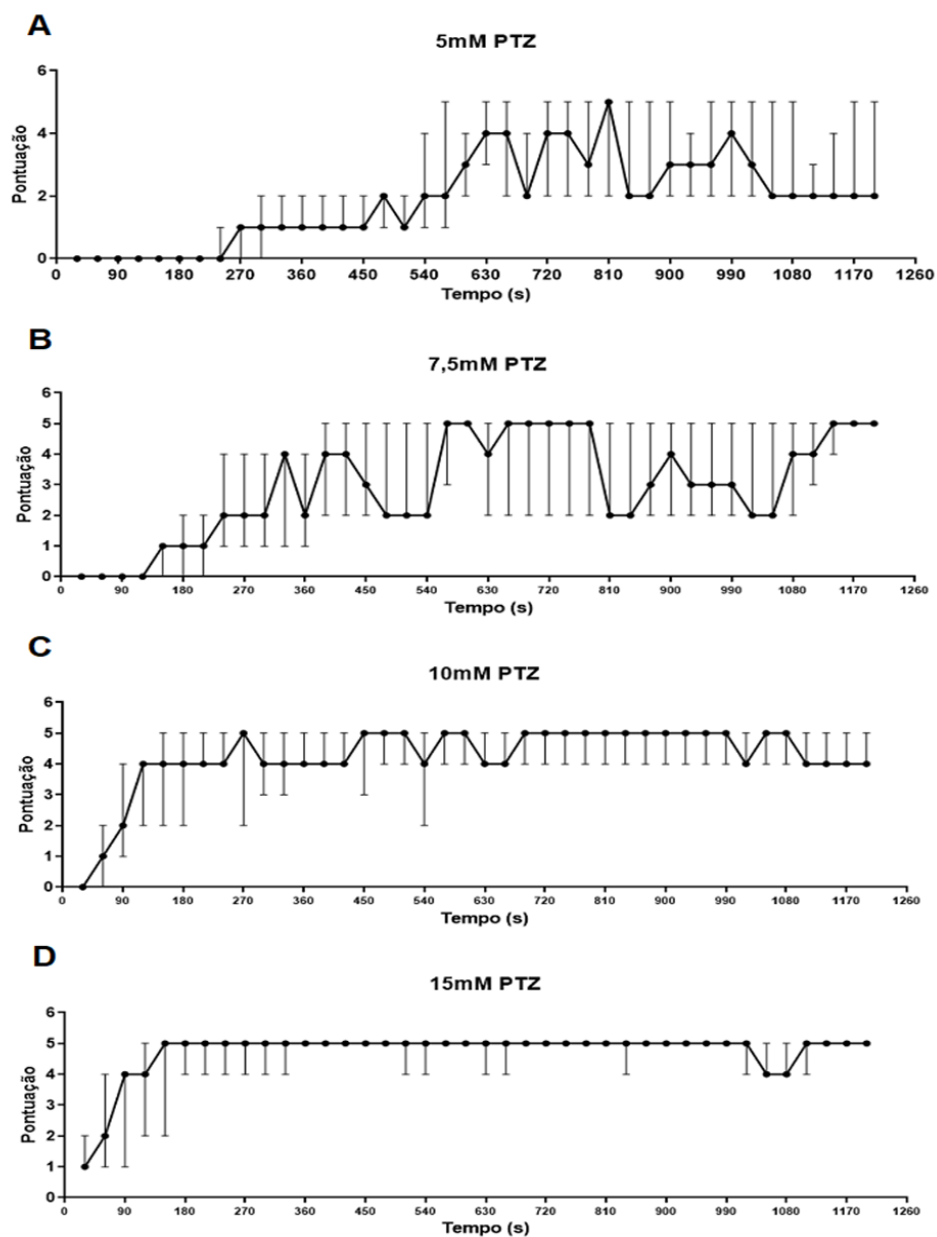
A Figura 11 representa o perfil comportamental temporal dos animais expostos a diferentes concentrações de PTZ. Através das análises foi possível perceber uma rápida progressão dos estágios nos primeiros 5 minutos para os grupos de 10 e 15 mM PTZ (teste de Friedman, $p,0,0001$; teste de comparações múltiplas de Dunn, $p,0,05$). Portanto, para realizar uma análise ao longo do tempo, 20 minutos foram divididos em intervalos de 30s.

Os animais expostos as concentrações mais altas (10 e 15 mM) (Figura 11 C e D) atingiram os estágios 4 e 5 mais rapidamente que os animais expostos as concentrações mais baixas (5 e 7,5 mM) (Figura 11 A e B) de PTZ. Os animais imersos em PTZ 5mM (Figura 11 A) apresentaram um padrão repetitivo para os estágios mais baixos (1 e 2) durante os primeiros 5 minutos e atingiram os estágios 4 e 5 nos últimos 15 minutos. Os animais da concentração 7,5 mM de PTZ (Figura 11 C) apresentaram o perfil intermediário (3) entre 5 mM e as

concentrações mais altas, alternando entre os estágios 3 a 5, começando em 450s a 1200s (teste de Friedmam, $p,0,0001$; teste de comparações múltiplas de Dunn, $p, 0,05$).

O tempo necessário para alcançar o estágio 5 em cada concentração foi: 810s para 5 mM; 510s para 7,5 mM; 270s para 10 mM; e 150s para 15 mM. Os animais das concentrações maiores (10 e 15 mM), apresentaram rápida evolução dos estágios 0-2 para o 4.

Figura 11 (A, B, C e D) - Perfil comportamental de convulsões induzidas por PTZ em juvenis de *Colossoma macropomum*. A principal característica do comportamento convulsivo induzido pelos tratamentos PTZ 5–15 mM durante 20 min ($n = 7$). Na pontuação das crises (considerou-se apenas a maior pontuação alcançada em cada intervalo).

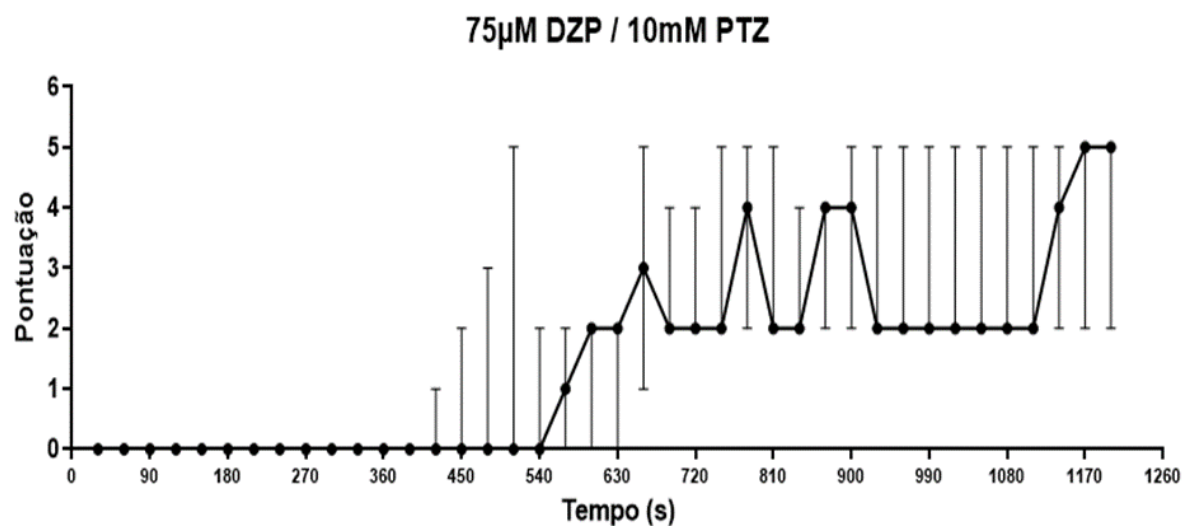


Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Os animais tratados apenas com o DZP apresentaram baixa motilidade nos primeiros 8 minutos de observação, caracterizando um efeito sedativo do fármaco padrão anticonvulsivante (dados não mostrados). Após isso, começaram a apresentar nados curtos no fundo do tanque, e nos 12 minutos restantes a atividade motora retornou assemelhando-se ao grupo controle (teste de Friedman, $p < 0,0001$; teste de comparações múltiplas de Dunn, $p < 0,9999$).

Os animais do grupo de $75\mu\text{M}$ DZP/ 10mM de PTZ apresentaram um perfil de crise temporal diferente em comparação ao grupo 10mM de PTZ. Em 240s (4 minutos e 30s), todos os animais expostos a 10mM de PTZ atingiram as pontuações 4 e 5 (Figura 11 C). No entanto, os animais expostos a DZP / 10mM de PTZ demoraram mais tempo para alcançar as pontuações mais altas (9 minutos) como mostra o Gráfico 1. Nos últimos 15 minutos os animais expostos a 10mM de PTZ apresentaram alternância entre as pontuações 4 e 5. Em contrapartida os peixes pré-tratados com o DZP apresentaram pontuações 2 a 5 (teste de Friedman, $p < 0,0001$; teste de comparações múltiplas de Dunn, $p < 0,0001$).

Gráfico 1 - Perfil comportamental para $75\mu\text{M}$ DZP/ 10mM de PTZ.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2023).

Durante os últimos anos diversos modelos de animais foram utilizados para o estudo da epilepsia, buscando mimetizar esta desordem, na tentativa de desvendar os mecanismos que à originam. Apesar de haver uma grande diversidade de modelos animais para

o estudo da epilepsia, alguns desses modelos se restringem a tipos específicos de crises, dificultando o estudo em um único modelo animal (LOCHER, 2011).

Esses modelos animais também são classificados em genéticos e não genéticos. Os modelos genéticos são utilizados na geração de crises espontâneas (resultado de anomalias do sistema nervoso central durante o desenvolvimento do modelo animal) que permitem estudar a forma crônica da doença, porém, não se tem o controle do início das crises convulsivas que podem surgir em qualquer momento do desenvolvimento do animal. Em contrapartida, os modelos não genéticos envolvem a aplicação de um estímulo (substância pró-convulsivante ou estímulo elétrico) que resulta em crises convulsivas, além de permitir um controle sobre o momento exato da manifestação da crise.

Dentro dos modelos não genéticos, tem-se os modelos agudos e crônicos, onde os modelos crônicos mais conhecidos são a LiCl-pilocarpina (TANG, 2011) e o modelo do ácido caínico (BLOSS; HUNTER, 2010), ambos causam uma crise prolongada no animal (status epilepticus) seguido por crises recorrentes. O modelo agudo mais utilizado é o do pentilenotetrazol (PTZ), que resulta em crise rápida e com baixa mortalidade (RUBIO *et al.*, 2010), mas também é capaz de gerar crises crônicas (método de abrasamento) (TAKECHI *et al.*, 2012).

O PTZ é um dos compostos mais utilizados na busca de novas DAEs, esta busca se dá pelo fato de muitos pacientes serem refratários aos tratamentos farmacológicos já existentes. De acordo com Loscher (2011), essa refratariedade pode ser resultado da utilização de apenas um modelo animal, normalmente roedores, para a triagem de novas DAEs, o que pode resultar em fármacos redundantes.

Na busca por novas DAEs, muitos modelos animais, sobretudo peixes, tem emergido como excelentes modelos para a caracterização de crises convulsivas induzidas por PTZ. Estudos anteriores realizaram análises detalhadas de comportamentos convulsivos induzidos por PTZ em larvas e adultos de peixe-zebra (BARABAN *et al.*, 2005; MUSSULINI *et al.*, 2013). No entanto, uma descrição do perfil da sequência comportamental de convulsões induzidas por PTZ em juvenis de *Collossoma macropomum* ainda não havia sido realizada até o presente trabalho, onde nosso resultado foi semelhante ao de Mussulini *et al.* (2013), tendo o tambaqui demonstrado alta sensibilidade ao agente pró-convulsivante (PTZ), expressando respostas comportamentais ao longo do tempo (Figura 11- A, B, C e D) similares às apresentadas no estudo de Mussulini *et al.* (2013) com o zebrafish.

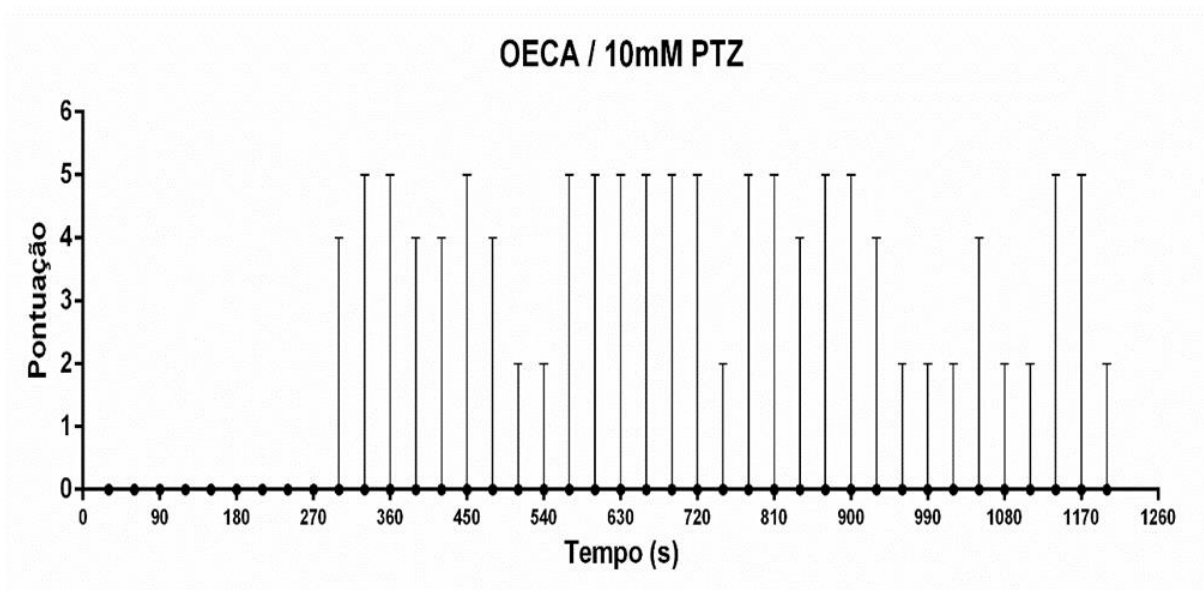
O *Collossoma macropomum* também tem sido amplamente utilizado em diversas áreas da pesquisa devido suas características fisiológicas e histológicas, alta sensibilidade frente

a diversas substâncias (mesmo em doses subletais), facilidade de criação e manutenção o que o tornam um excelente modelo animal para estudos nas áreas da toxicologia, estudos bioquímicos, imunológicos e comportamentais (AMORIM, 2014).

Além disso, essa espécie é usada como modelo neotropical para testar a eficácia de anestésicos obtidos de plantas (SACCOL *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 201; BALDISSEROTTO *et al.*, 2018; BATISTA *et al.*, 2018).

Os animais do grupo com o pré-tratamento do óleo essencial de *Cyperus articulatos* (OECA / 10 mM de PTZ) apresentaram um perfil de convulsão temporal diferente em comparação ao grupo 10 mM de PTZ. Em todo o tempo de exposição, os animais expostos a 10 mM de PTZ, mas previamente exposto a 0,005% v/v de óleo atingiram as pontuações médias 0 e 0 como mostra o Gráfico 2. O que demonstra uma diminuição significativa no comportamento convulsivo dos animais juvenis nesta concentração.

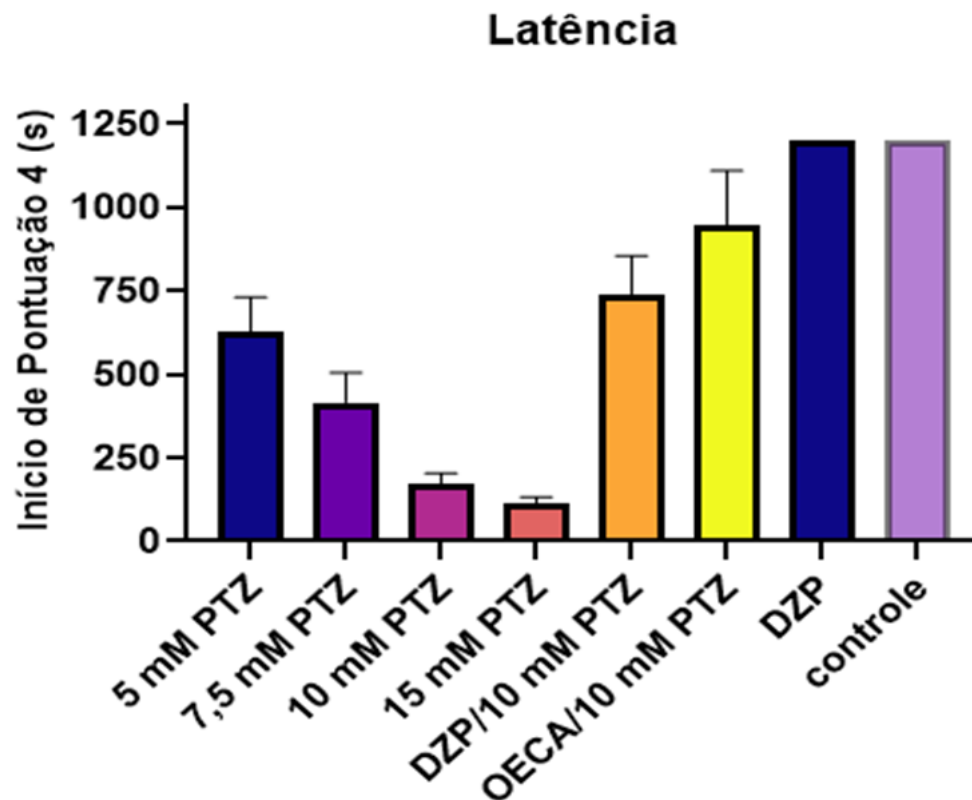
Gráfico 2 - Perfil comportamental para OECA / 10 Mm de PTZ.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

O Gráfico 3 demonstra a latência de cada tratamento experimental para marcar o início do estágio 4.

Gráfico 3 – A latência para marcar o início do estágio 4. Os dados da intensidade e latência das crises são representados como média \pm o erro padrão da média e analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste de Bonferroni como post-hoc.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2023)

As análises mostraram que os grupos imersos na concentração de 15 mM apresentaram menor latência para atingir o estágio 4 quando comparados aos animais imersos nas concentrações de 5 e 7,5mM. Além disso, os animais expostos a PTZ 5mM apresentaram maior latência para o estágio 4 quando comparados as demais concentrações (ANOVA de uma via, $F [7, 48] = 23,71$, $p < 0,0001$; teste de Bonferroni, $p < 0,0037$).

O grupo DZP/10mM apresentou latência maior que o grupo PTZ 10mM para atingir a pontuação 4 (ANOVA de uma via, $F [7, 48] = 23,71$, $p < 0,0001$; teste de Bonferroni, $p < 0,0009$). O grupo OECA/10mM também apresentou latência maior que o grupo PTZ 10mM (ANOVA de uma via, $F [7, 48] = 23,71$, $p < 0,0001$; teste de Bonferroni, $p < 0,0001$). Quando comparados os grupos DZP/10mM e OECA/ 10mM a análise mostra que não há variância significativa entre eles (ANOVA de uma via, $F [7, 48] = 23,71$, $p < 0,0001$; teste de Bonferroni, $p > 0,9999$).

A procura por novas substâncias com potenciais farmacológicos, oriundos de plantas, tem crescido. Inúmeros produtos de origem natural foram inseridos na clínica nos últimos anos, pelo enorme potencial psicoterapêutico que eles apresentam, como: *Ginko biloba*,

Piper methysticum, *Valeriana officinalis* L., *Passiflora incarnata* L., *Lavandula* sp., *Matricaria recutita* L., *Melissa officinalis* L., *Hypericum perforatum*, entre outros (VASCONCELOS, 2022).

A espécie *Cyperus articulatos* é uma espécie vegetal que vem sendo bastante utilizada pela medicina popular por apresentar diversas aplicações terapêuticas e farmacológicas (SILVA, 2019). Diversos estudos atribuem a esta espécie atividades analgésica, anti-inflamatória, contraceptiva, antimicrobiana e sedativas (PEREIRA, 2019). Propriedades antidepressivas e ansiolíticas também são atribuídas ao óleo essencial esta espécie, observadas em camundongos demonstrados no trabalho de (LOPES, 2023).

Herrera-Calderon *et al.* (2018) demonstrou que o extrato etanólico das folhas de *Cyperus articulatus* L. possui um efeito potencial para prevenir convulsões induzidas por PTZ, atividade antioxidante, além de aumentar os níveis de GABA. E outros estudos sugerem que o extrato metanólico dos rizomas da *C. articulatus* possuem mecanismos que atuam na inibição seletiva de receptores NMDA no sistema nervoso central (NGO *et al.*, 2001).

Na literatura, até onde sabemos não há estudos que descrevem a atividade farmacológica anticonvulsivante do óleo essencial de *C. articulatus* sobre crises convulsivas em juvenil de *Colossoma macropomum*. Assim, este trabalho possibilitou a análise da atividade anticonvulsivante do OECA em juvenis de tambaqui, e demonstrou que os animais tratados com o OECA mostraram considerável redução das crises convulsivas (Gráfico 2), além de terem apresentado maior latência para atingir o estágio 4 (Gráfico 3) quando comparado aos grupos tratados apenas com PTZ.

Em contrapartida, quando comparado com o grupo controle (apenas água), o controle positivo (apenas DZP) e o grupo pré-tratado com DZP, não mostrou variância significativa, em outras palavras, o OECA inibiu as crises convulsivas tão bem quanto o fármaco convencional, configurando-se uma possível fonte medicinal promissora, com enorme colaboração futura no tratamento da epilepsia.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A descrição do perfil da sequência comportamental de convulsões induzidas por PTZ em juvenis de *Colossoma macropomum* demonstrou resultados promissores, sendo similares aos encontrados na literatura científica.

Além disso, o óleo essencial da *Cyperus articulatus* diminuiu significativamente as crises convulsivas induzidas por PTZ nos juvenis de tambaqui.

A análise dos padrões comportamentais induzidos nos juvenis de tambaqui, pode contribuir para tornar este modelo útil não apenas para novas descobertas de DAEs, mas também esclarecer os mecanismos fisiológicos que precedem as crises convulsivas. Somado isto, à atividade anticonvulsivante demonstrada pelo OECA, pode ser útil no tratamento de crises epiléticas no futuro. Portanto, o isolamento das substâncias ativas do óleo essencial pode ser a próxima etapa para continuar com a pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ABUBAKAR, M. S.; ABDURAHMAN, E. M.; HARUNA, A. K. The repellent and antifeedant properties of *Cyperus articulatus* against *Tribolium castaneum* Hbst. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 14, n. 4, p. 281-283, 2000.
- AMORIM, J. A. S. **Avaliação do espectro de reação de um sistema de diagnóstico por vídeo rastreio de peixes zebra (*Danio rerio*) expostos a cinco tóxicos distintos**. Dissertação (Toxicologia e Contaminação Ambientais). Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Porto, 2014.
- ARANHA, R. C. **Potencial de toxicidade dos herbicidas glifosato e imazetapir em *Colossoma macropomum* (Pisces)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Recursos Naturais da Amazônia. Santarém, Pará, 2013.
- ARAÚJO-LIMA, C.; GOMES, L. Tambaqui *Colossoma macropomum*. In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM, p. 175-202, 2005.
- ARIDE, P. H. R.; ROUBACH, R.; VAL, A. L. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. **Aquaculture Research**, 38:588-594, 2007.
- AZZAZ, N. A. E.; EL-KHATEEB, A. Y.; FARAG, A. A. Chemical composition and biological activity of the essential oil of *Cyperus articulatus*. **International Journal of Academic Research**, v. 6, n. 5, 2014.
- BALDISSEROTTO, B.; BARATA, L. E.; SILVA, A. S.; LOBATO, W. F.; SILVA, L. L.; TONI, C.; SILVA, L. V. Anesthesia of tambaqui *Colossoma macropomum* (Characiformes: Serrasalminidae) with the essential oils of *Aniba rosaeodora* and *Aniba parviflora* and their major compound, linalool. **Neotropical Ichthyology**, 16. 2018.
- BARABAN S. C.; TAYLOR M. R.; CASTRO P. A.; BAIER H. Pentylentetrazole induced changes in zebrafish behavior, neural activity, and c-fos expression. **Neuroscience**. 131, 759-68, 2005.
- BASILIO, P. V.; FERREIRA, R. C. V. “A Importância Do Uso Do Canabidiol Em Pacientes Com Epilepsia”. **Revista Saúde UniToledo**, v. 3, n. 2, 2019.
- BATISTA, E. S.; BRANDÃO, F. R.; MAJOLO, C.; INOUE, L. A. K. A.; MACIEL, P. O.; OLIVEIRA, R. M.; CHAVES, F. C. M.; CHAGAS, E. C. *Lippia alba* essential oil as anesthetic for tambaqui. **Aquaculture**, 495, 545-549, 2018.
- BERGEN, D. C. Epilepsia. In: WEINER, W. J.; GOETZ, C. G. **Neurologia para o Não-Especialista**. 4 ed. São Paulo: Livraria Santos. Cap. 8, p. 103-109, 2003.
- BLOSS, E. B.; HUNTER, R. G. Hippocampal kainate receptors. **Vitamins & Hormones**, 82, 167-84, 2010.

BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. A. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**, v. 1. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007.

BUM, E. N.; SCHMUTZ, M.; MEYER, C.; RAKOTONIRINA, A.; BOPELET, M.; PORTET, C.; JEKER, A.; RAKOTONIRINA, S. V.; OLPE, H. R.; HERRLING, P. Anticonvulsant properties of the methanolic extract of *Cyperus articulatus* (Cyperaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 2, p. 145-150. 2001.

BUM, E. N.; LINGENHOEHL, K.; RAKOTONIRINA, A.; OLPE, H. R.; SCHMUTZ, M.; RAKOTONIRINA, S. Ions and amino acid analysis of *Cyperus articulatus* L.(Cyperaceae) extracts and the effects of the latter on oocytes expressing some receptors. **Journal of ethnopharmacology**, 95 (2-3), 303-309, 2004.

CARVALHO, C. R.; FRANCO, P. L. C.; EIDT, I.; HOELLER, A. A.; WALZ, R. Canabinoides e Epilepsia: potencial terapêutico do canabidiol. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, 29(1), 54-63, 2017.

CAMARGO, M. T. L. A. As plantas medicinais e o sagrado, considerando seu papel na eficácia das terapias mágico-religiosas. **Revista do Núcleo de Estudos de Religião e Sociedade (NURES)**. ISSN 1981-156X, n. 26, 2014.

CUNHA, V. V.; SANTOS, A. J. Crescimento de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (cuvier, 1818), em tanques-rede com diferentes densidades populacionais em Ji-paraná, RO, Amazônia. **Ciência & Desenvolvimento**, Belém, v. 6, n. 12, p.185, 2011.

DA SILVA, M. C. *et al.* Utilização da *Piper methysticum* (L.) e *Passiflora incarnata* (L.) no tratamento de transtorno de ansiedade generalizada. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 4, p. 959-973, 2021.

DESMARCHELIER, C.; REPETTO, M.; COUSSIO, J.; LLESUY, S.; CICCIA, G. Total reactive antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity (TAR) of medicinal plants used in Southwest Amazonia (Bolivia and Peru). **International Journal of Pharmacognosy**, 35(4), 288-296, 1997.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELINA C. Anti-candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 305-311, 2005.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 446-452, 2006.

ESPINOSA-JOVEL, C.; TOLEDANO, R.; ALEDO-SERRANO, Á.; GARCÍA-MORALES, I.; GIL-NAGEL, A. Epidemiological profile of epilepsy in low income populations. **Seizure**, v. 56, p. 67-72, 2018.

FERNANDES, M. J. S. Epilepsia do lobo temporal: mecanismos e perspectivas. **Estudos avançados**, v. 27, p. 85-98, 2013.

FISHER, R. S.; BOAS, W. V. E.; BLUME, W.; ELGER, C.; GENTON, P.; LEE, P.; ENGEL J. R. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). **Epilepsia**, v. 46, n. 4, p. 470-472, 2005.

FISHER, R. S.; ACEVEDO, C.; ARZIMANOGLU, A.; BOGACZ, A.; CROSS, J. H.; ELGER, C. E.; ENGEL JR, J.; FORSGREN, L.; FRENCH, J. A.; GLYNN, M.; HESDORFFER, D. C.; LEE, B. I.; MATHERN, G. W.; MOSHÉ, S. L.; PERUCCA, E.; SCHEFFER, I. E.; TOMSON, T.; WATANABE, M.; WIEBE, S. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. **Epilepsia**, v. 55, p. 475–482, 2014.

FISHER, R. S.; CROSS, J. H.; D'SOUZA, C.; FRENCH, J. A.; HAUT, S. R.; HIGURASHI, N.; HIRSCH, E.; JANSEN, F. E.; LAGAE, L.; MOSHÉ, S. L.; PELTOLA, J.; PEREZ, E. R.; SCHEFFER, I. E.; SCHULZE-BONHAGE, A.; SOMERVILLE, E.; SPERLING, M.; YACUBIAN, E. M.; ZUBERI, S. M. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. **Epilepsia**, v. 58, p. 531, 2017.

GORDON-GRAY, K. D.; WARD, C. J.; EDWARDS, T. J. Studies in Cyperaceae in southern Africa 39: *Cyperus articulatus* L. and *Cyperus corymbosus* Rottb. **South African Journal of Botany**, v. 72, n. 1, p. 147-149, 2006.

GOULDING, M.; CARVALHO, M. L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): an important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, 1:107-133, 1982.

GUIMARÃES, S. F. In – Organizadores: VAL, A. L.; SANTOS, G. M. **Recursos pesqueiros amazônicos: uma análise conjuntural**. TOMO II. Manaus: INPA. v. 1, p. 978-985. ISBN :978-85-211-0050-8, 2009.

HASSANEIN, H. D.; NAZIF, N. M.; SHAHAT, A. A.; HAMMOUDA, F. M.; ABOUTABLE, E. S. A.; SALEH, M. A. Chemical diversity of essential oils from *Cyperus articulatus*, *Cyperus esculentus* and *Cyperus papyrus*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 17, n. 2, p. 251-264, 2014.

HERRERA-CALDERON, O.; SANTIVÁÑEZ-ACOSTA, R.; PARI-OLARTE, B.; ENCISO-ROCA, E.; MONTES, V. M. C.; ACEVEDO, J. L. A. Anticonvulsant effect of ethanolic extract of *Cyperus articulatus* L. leaves on pentylenetetrazol induced seizure in mice. **Journal of traditional and complementary medicine**, 8 (1), 95-99, 2018.

IZEL, A. C. U.; CRESCENCIO, R.; O'SULLIVAN, F. L. D. A.; CHAGAS, E. C.; BOIJINK, C. D. L. (2014). **Cultivo do tambaqui no Amazonas**. 51 p. ABC da Agricultura Familiar, 36, 2014.

KAVAZ, D.; IDRIS, M.; ONYEBUCHI, C. Physiochemical characterization, antioxidative, anticancer cells proliferation and food pathogens antibacterial activity of chitosan nanoparticles loaded with *Cyperus articulatus* rhizome essential oils. **International journal of biological macromolecules**, v. 123, p. 837-845, 2019

LOPES, J. M. C. **Avaliação da atividade antidepressiva e ansiolítica do óleo essencial da *Cyperus articulatus* L.** Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Sociedade Ambiente e Qualidade de Vida, Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, 2023.

LOSCHER, W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. **Seizure** 20: 359-368, 2011.

MACHADO, I. R.; MENDES, K. R.; ARÉVALO, M. R.; KASPER, A. A. M.; CASTRO, K. C. F.; CERQUEIRA, H. G.; SILVA, A. S.; BARATA, L. E. S. Medical, Therapeutic and Pharmaceutical use of *Cyperus articulatus* L.: Uma Revisão. **Biodiversidade Brasileira-BioBrasil**, n. 3, p. 11-23, 2020.

MARANHÃO, M. V. M; GOMES, E. A; CARVALHO, P. E. Epilepsia e anestesia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 61, n. 2, 2011.

MATOS, R. L.; SPINOLA, L. A.; BARBOZA, L. L.; GARCIA, D. R.; FRANÇA, T. C.; AFFONSO, R. S. O uso do canabidiol no tratamento da epilepsia. **Revista Virtual de Química**, 9(2), 786-814, 2017.

MEDEIROS, E. A. P.; VIEIRA, G. C.; SOUZA, R. A. Fisiopatologia da epilepsia e perspectiva no tratamento com o uso dos canabinóides. TCC, 2020.

MELO, C. R.; LIRA, A. B.; ALVES, M. F.; LIMA, C. M. B. L. O uso de plantas medicinais para doenças parasitárias. **Acta Brasiliensis**, 1(1), 28-32, 2017.

METUGE, J. A.; NYONGBELA, K. D.; MBAH, J. A.; SAMJE, M.; FOTSO, G.; BABIAKA, S. B.; CHO-NGWA, F. Anti-Onchocerca activity and phytochemical analysis of an essential oil from *Cyperus articulatus* L. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, n. 1, p. 1-10, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Organização Mundial da Saúde - "**Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Epilepsia**". 2019.

MONGELLI, E.; DESMARCHELIER, C.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Antimicrobial activity and interaction with DNA of medicinal plants from the Peruvian Amazon region. **Revista Argentina de Microbiologia**, 27(4), 199-203, 1995.

MUSSULINI, B. H. M.; LEITE, C. E.; ZENKI, K. C.; MORO, L.; BAGGIO, S.; RICO, E. P.; ROSEMBERG, D. B.; DIAS, R. D.; SOUZA, T. M.; CALCAGNOTTO, M. E.; CAMPOS, M. M.; BATTASTINI, A. M.; OLIVEIRA, D. L. Seizures induced by pentylentetrazole in the adult zebrafish: a detailed behavioral characterization. **PloS one**, v. 8, n. 1, p. e54515, 2013.

NGO, E.; SCHMUTZ, M.; MEYER, C.; RAKOTONIRINA, A.; BOPELET, M.; PORTET, C. Propriedades anticonvulsivantes do extrato metanólico de *Cyperus articulatus* (Cyperaceae). 302e310. **Journal Ethnopharmacol**, 76:145e150, 2001.

NUNES, E. S. S.; CAVERO, B. A. S.; PEREIRA-FILHO, M. E ROUBACH, R. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 1, p. 139-143, 2006.

NUNES, A. Utilização da planta medicinal erva-de-são-joão (*Hypericum perforatum* L.) no tratamento de depressão. **Visão Acadêmica**, v. 19, n. 3, 2018.

PEREIRA, A. M. N. **Atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo essencial de *Cyperus articulatus* var. *nodosus* L.** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Oeste do Pará, 2019.

PEREIRA, L. M. C. *et al.* Revisão sistemática sobre os efeitos ansiolíticos da *Melissa officinalis* L. (erva cidreira). **Reunião Científica**, n. XII, 2021.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J. **Estudo da atividade anticonvulsivante de *Rauvolfia ligustrina* roem et Schult. e de derivados indólicos sintéticos.** João Pessoa. [Tese de Doutorado Universidade Federal da Paraíba], 2004.

RAKOTONIRINA, V. S.; NGO, B. E.; RAKOTONIRINA, A.; BOPELET, M. Propriedades sedativas da decocção do rizoma de *Cyperus articulatus*. **Fitoterapia**, 72(1): 22-29, 2001.

RAMSDORF, W. **Avaliação da toxicidade dos compostos fipronil, nitrato de chumbo e naftaleno em peixes.** Tese (Doutorado em Genética). Programa de Pós Graduação em Genética. Universidade Federal do Paraná (UFPR). Curitiba, Paraná, 2011.

REKTOR, I.; SCHACHTER, S. C.; ARZY, S.; BALOYANNIS, A. J.; BAZIL, C.; BRÁZDIL, M.; ENGEL JR., J.; HELMSTAEDTER, G.; HESDORFFER, D. C.; JONES-GOTMAN, M.; KESNER, L.; KOMÁREK, V.; KRÄMER, G.; LEPPIK, I. E.; MANN, M. W.; MULA, M.; RISSE, G. L.; STOKER, G. W.; TRENITÉ, D. G. A. K-N.; TRIMBLE, M.; TYRLIKOVÁ, I.; KORCZYN, A. D. Epilepsy, behavior, and art (Epilepsy, Brain, and Mind, part 1). **Epilepsy & Behavior**, v. 28, n. 2, p. 261-282, 2013.

RUBIO, C.; RUBIO-OSORNIO, M.; RETANA-MARQUEZ, S.; VERONICA CUSTODIO, M. L.; PAZ, C. In vivo experimental models of epilepsy. **Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)**, v. 10, n. 4, p. 298-309, 2010.

RUKUNGA, G. M. *et al.* Anti-plasmodial activity of the extracts and two sesquiterpenes from *Cyperus articulatus*. **Fitoterapia**, v. 79, n. 3, p. 188-190, 2008.

SACCOL, E. M. H.; TONI, C.; PÊS, T. S.; OURIQUE, G. M.; GRESSLER, L. T.; SILVA, L. V. F.; MOURÃO, R. H. V.; OLIVEIRA, R. B.; BALDISSEROTTO, B.; PAVANATO, M. A. Anaesthetic and antioxidant effects of *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. and *Curcuma longa* L. essential oils on tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture Research**, v. 48, n. 5, p. 2012-2031, 2017.

SANTOS, G. M.; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes comerciais de Manaus. In: Geraldo** (Ed.). – Manaus: Ibama/AM, ProVárzea, p. 144, il. ISBN 85-7300-211-5, 2006.

SILVA, H. N. P.; SOUSA, E. M. O.; MAIA, J. L. S.; PINHEIRO, M. T. L.; LAMEIRÃO, S. V. O. C.; MOURÃO, R. H. V.; MAIA, J. G. S.; BALDISSEROTTO, B.; SILVA, L. V. F. *Lippia alba* (Verbenaceae) hydrolate as sedative of tambaqui (*Colossoma macropomum*) juveniles in simulated transport conditions. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 1, p. 128-134, 2018.

SILVA, N. C. **Atividade antiplasmódica in vitro e antimalárica in vivo do óleo essencial de *Cyperus articulatus* L.** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Oeste do Pará, 2019.

TAKECHI, K.; SUEMARU, K.; KAWASAKI, H.; ARAKI, H. Impaired memory following repeated pentylenetetrazol treatments in kindled mice. *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, v. 132, n. 2, p. 179-182, 2012.

TANG, F. R.; LOKE, W. K.; LING, E. A. Comparison of status epilepticus models induced by pilocarpine and nerve agents-a systematic review of the underlying aetiology and adopted therapeutic approaches. *Current medicinal chemistry*, v. 18, n. 6, p. 886-899, 2011.

THIJS, R. D.; SURGES, R.; O'BRIEN, T. J.; SANDER, J. W. **Epilepsy in adults**. *The Lancet*, 393(10172), 689-701, 2019.

VASCONCELOS, T. M. V. Plantas medicinais no tratamento de ansiedade e depressão-revisão de literatura. Trabalho de Conclusão de Curso, 2022.

WYLLIE, E. **Wyllie's Treatment of Epilepsy: Principles and Practice**. 6^a. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2015.

ZOGBHI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; OLIVEIRA, J.; CARREIRA, L.M. M.; GUILHON, G. M. S. P. Yield and chemical composition of the essential oil of the stems and rhizomes of *Cyperus articulatus* L. cultivated in the state of Para, Brazil, *Journal of essential oil*, v. 18, 2006.

ZOGBHI, M. G. B.; GUILHON, G. M. S. P.; ANDRADE, E. H. A.; VILHENA, K. S. S. Química das espécies de *Cyperus* conhecidas por Priprioca In: POTIGUARA, R. C. V.; ZOGBHI, M. G. B. (Org) **Priprioca: um recurso aromático do Pará**. Belém: MPEG, UEPA, p. 53-76. 2008.



Universidade Federal do Oeste do Pará
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CEUA



CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo N° **0120190052**, intitulado **Avaliação da Potencial Atividade Farmacológica Anticonvulsivante do Óleo Essencial da Cyperus articulatus (Priprioca) em alevinos de tambaquis**, sob a responsabilidade de **Maxwell Barbosa de Santana**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA.

CERTIFICATE

We certify that the protocol N° **0120190052**, entitled "**Avaliação da Potencial Atividade Farmacológica Anticonvulsivante do Óleo Essencial da Cyperus articulatus (Priprioca) em alevinos de tambaquis**", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA). This project was approved by the institutional Commission for Ethics in the Use of Animals of Universidade Federal do Oeste do Pará.

Santarém-PA, 08/10/2019

Prof. Dr. Maxwell Barbosa de Santana
Presidente

Verificar a autenticidade do certificado em <http://ufopa.edu.br/ceua/validar-certificado>

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

1. Identificação do autor

Nome completo: Natamiely Cristina Pinto Pimentel
CPF: 04217285230 RG: 7746684 Telefone: (93) 98107-6355
E-mail: natamielybcb18@gmail.com

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página de rosto?

(X) Sim () Não

2. Identificação da obra

(X) Monografia () TCC () Dissertação () Tese () Artigo científico () Outros: _____

Título da obra: AVALIAÇÃO DA PONTECIAL ATIVIDADE FARMACOLÓGICA
ANTICONVULSIVANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Cyperus articulatus* EM JUVENIS DE
TAMBAQUI

Programa/Curso de pós-graduação: Instituto de Ciência e Tecnologia das Águas

Data da conclusão: 21/06/2023.

Agência de fomento (quando houver): _____

Orientador: Maxwell Barbosa de Santana

E-mail: barbosadesantana@gmail.com

Examinadores: Profa. Dra. Eveleise Samira Martins Canto; Prof. M.Sc. João David Batista Lisbôa

3. Informação de disponibilização do documento:

O documento está sujeito a patentes? () Sim (X) Não

Restrição para publicação: () Total () Parcial (X) Sem restrição

Justificativa de restrição total*: _____

4. Termo de autorização

Autorizo a Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) a incluir o documento de minha autoria, acima identificado, em acesso aberto, no Portal da instituição, no Repositório Institucional da Ufopa, bem como em outros sistemas de disseminação da informação e do conhecimento, permitindo a utilização, direta ou indireta, e a sua reprodução integral ou parcial, desde que citado o autor original, nos termos do artigo 29 da Lei nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, e da lei 12.527 de novembro de 2011, que trata da Lei de Acesso à Informação. Essa autorização é uma licença não exclusiva, concedida à Ufopa a título gratuito, por prazo indeterminado, válida para a obra em seu formato original.

Declaro possuir a titularidade dos direitos autorais sobre a obra e assumo total responsabilidade civil e penal quanto ao conteúdo, citações, referências e outros elementos que fazem parte da obra. Estou ciente de que todos os que de alguma forma colaboram com a elaboração das partes ou da obra como um todo tiveram seus nomes devidamente citados e/ou referenciados, e que não há nenhum impedimento, restrição ou limitação para a plena validade, vigência e eficácia da autorização concedida.

Santarém, 07/07/2023.

Assinatura do autor

5. Tramitação no curso

Secretaria / Coordenação de curso

Recebido em ____/____/____. Responsável: _____

Siapa/Carimbo