



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA

ANGÉLICA LIMA SOARES

ESDRAS MORAIS SOBREIRO LIMA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTIDEPRESSIVO E ANTICONVULSIVANTE DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton heliotropiifolius* Kunth EM CAMUNDONGOS**

Teresina - Piauí

2025

L732a Lima, Esdras Morais Sobreiro.

Avaliação dos efeitos antidepressivo e anticonvulsivante do óleo essencial de *Croton heliotropiifolius* Kunth em camundongos / Esdras Morais Sobreiro Lima, Angélica Lima Soares. - Teresina-PI, 2025.

29 f.: il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ-UESPI, CCS-Facime, Curso de Bacharelado em Medicina.

Orientadora : Prof.^a Dr.^a Rosimarie Brandim Marques.

1. Croton. 2. Terpenos. 3. Epilepsia. 4. Depressão. I. Soares, Angélica Lima . II. Marques, Rosimarie Brandim . III. Título.

CDD 610

ANGÉLICA LIMA SOARES
ESDRAS MORAIS SOBREIRO LIMA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTIDEPRESSIVO E ANTICONVULSIVANTE DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton heliotropiifolius* Kunth EM CAMUNDONGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Bacharelado em Medicina da Universidade Estadual do Piauí - UESPI, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Medicina.

Orientadora: Profa. Dra. Rosemarie Brandim Marques

Teresina - Piauí

2025

ANGÉLICA LIMA SOARES

ESDRAS MORAIS SOBREIRO LIMA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTIDEPRESSIVO E ANTICONVULSIVANTE DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton heliotropiifolius* Kunth EM CAMUNDONGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Bacharelado em Medicina da
Universidade Estadual do Piauí - UESPI, como
requisito parcial à obtenção do título de Bacharel
em Medicina.

Orientadora: Profa. Dra. Rosemarie Brandim
Marques

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Rosemarie Brandim Marques

Professora Orientadora

Profa. Dra. Lucielma Salmito Soares Pinto

Membro da Banca

Prof. Dr. Antônio Luiz Martins Maia Filho

Membro da Banca

RESUMO

INTRODUÇÃO: O óleo essencial das folhas da espécie *Croton heliotropiifolius* (OCH) apresenta como constituintes químicos uma mistura de monoterpenos que têm diversas propriedades descritas na literatura, como antidepressiva, anti-inflamatória, ansiolítica e anticonvulsivante. Assim, os produtos oriundos dessa planta constituem uma estratégia terapêutica possível para o tratamento e controle de distúrbios neurológicos e psiquiátricos, tornando-se necessária a pesquisa para o desenvolvimento de medicamentos complementares e alternativos. **OBJETIVO:** Investigar os efeitos antidepressivo e anticonvulsivante do óleo essencial das folhas de *Croton heliotropiifolius* Kunth em modelos animais. **MATERIAIS E MÉTODOS:** O trabalho recebeu as devidas aprovações éticas. Para os testes da ação antidepressiva foram utilizados camundongos albinos (*Mus musculus*), variedade Swiss, adultos, divididos em 5 grupos, com 6 animais/grupo. No grupo controle negativo (CN), os animais receberam veículo de 0,1mL/10g/peso; nos grupos teste (GT), OCH em três doses (25; 50; 100 mg/Kg); no grupo controle positivo (CP) foi administrada fluoxetina (20 mg/Kg). Os testes comportamentais utilizados foram o Teste do Nado Forçado (TNF), o Teste de Suspensão Cauda (TSC) e o Teste de Campo Aberto (TCA). Para o teste de avaliação anticonvulsivante foi utilizada a mesma variedade de animais com n=6, pré-tratados com solução fisiológica (0,1mL/10g/animal) - controle negativo (CN1) -, OCH nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg - grupos teste (GT1) - e com Diazepam (DZP) (4mg/kg) - controle positivo (CP1). A indução de epilepsia, pela pilocarpina, foi feita com a dose de 400 mg/kg, para todos os animais. Os dados foram analisados utilizando One-Way ANOVA seguido do pós teste o tukey. Para todos os testes foi considerado um nível de significância de 5%. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** No TSC e no TNF observou-se, nos GT, diminuição significativa do tempo de imobilidade, assim como o grupo CP, com relação ao grupo CN. A partir disso, escolheu-se a dose de 25 mg/kg de OCH para o TCA. O grupo que recebeu esta dose não apresentou diferença significativa com relação ao grupo CN. Já em relação a ação anticonvulsivante, os resultados indicaram aumento da latência de 1ª convulsão tanto no grupo de animais que recebeu OCH na dose de 100 mg/kg quanto DZP, quando comparados ao CN1. Com relação à latência de morte, verificou-se aumento na latência de morte dos animais pré-tratados com DZP e com a dose de 200 mg/kg de OCH, com relação ao CN1. Assim, os dados obtidos nos testes sugerem que o OCH possui efeito antidepressivo e anticonvulsivante em algumas das concentrações testadas, contudo, ensaios complementares para a validação desses resultados promissores devem ser realizados. **CONCLUSÃO:** Este estudo sugere as potencialidades do OCH, derivado de uma espécie amplamente encontrada na biota brasileira, em patologias do SNC, como a depressão e a epilepsia, e abre portas para que novas pesquisas sejam realizadas, em alinhamento com os esforços da comunidade científica internacional para a descoberta de novas linhas terapêuticas. **Palavras-chave:** Croton. Terpenos. Epilepsia. Depressão.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The essential oil from the leaves of the species *Croton heliotropiifolius* (OCH) contains a mixture of monoterpenes with various properties described in the literature, including antidepressant, anti-inflammatory, anxiolytic, and anticonvulsant properties. Therefore, products derived from this plant constitute a potential therapeutic strategy for the treatment and control of neurological and psychiatric disorders, necessitating research into the development of complementary and alternative medicines. **OBJECTIVE:** To investigate the antidepressant and anticonvulsant effects of the essential oil from the leaves of *Croton heliotropiifolius* Kunth in animal models. **MATERIALS AND METHODS:** The work received the appropriate ethical approvals. For the tests of antidepressant action, adult albino mice (*Mus musculus*), Swiss variety, were used, divided into 5 groups, with 6 animals/group. In the negative control group (CN), the animals received vehicle at 0.1 mL/10 g/weight; in the test groups (GT), OCH in three doses (25; 50; 100 mg/kg); in the positive control group (CP), fluoxetine (30 mg/kg) was administered. The behavioral tests used were the Forced Swimming Test (TNF), the Tail Suspension Test (TSC) and the Open Field Test (TCA). For the anticonvulsant evaluation test, the same variety of animals with n=6 were used, pre-treated with saline solution (0.1 mL/10 g/animal) - negative control (CN1) -, OCH at doses of 50, 100 and 200 mg/kg - test groups (GT1) - and with Diazepam (DZP) (4 mg/kg) - positive control (CP1). Epilepsy was induced with pilocarpine at a dose of 400 mg/kg for all animals. Data were analyzed using One-Way ANOVA followed by Tukey's post-test. A significance level of 5% was considered for all tests. **RESULTS AND DISCUSSION:** In the TSC and TNF, a significant decrease in immobility time was observed in the TG, as was the case in the CP group, compared to the CN group. Therefore, the 25 mg/kg dose of OCH was chosen for the ACT. The group receiving this dose showed no significant difference compared to the CN group. Regarding anticonvulsant action, the results indicated an increase in the latency to the first seizure in both the group of animals receiving OCH at a dose of 100 mg/kg and DZP, when compared to CN1. Regarding latency to death, an increase in the latency to death was observed in animals pretreated with DZP and with the 200 mg/kg dose of OCH, compared to CN1. Therefore, the data obtained in the tests suggest that OCH has antidepressant and anticonvulsant effects at some of the concentrations tested. However, further trials to validate these promising results are needed. **CONCLUSION:** This study suggests the potential of OCH, derived from a species widely found in the Brazilian biota, in CNS pathologies, such as depression and epilepsy, and opens doors for further research to be carried out, in alignment with the efforts of the international scientific community for the discovery of new therapeutic lines.

Keywords: Croton. Terpenes. Epilepsy. Depressive Disorder.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação do Teste do Nado Forçado (TNF).	16
Figura 2	Representação do Teste de Suspensão pela Cauda (TSC).	16
Figura 3	Representação do Teste do Campo Aberto (TCA).	17
Figura 4	Efeito do tratamento com óleo de Cróton (25, 50 e 100 mg/kg, via oral) e fluoxetina (20mg/kg, via oral) no parâmetro tempo de imobilidade em camundongos machos submetidos ao teste da suspensão pela cauda.	18
Figura 5	Efeito do tratamento com óleo de Cróton (25, 50 e 100 mg/kg, via oral) e fluoxetina (20mg/kg, via oral) no parâmetro tempo de imobilidade em camundongos machos submetidos ao teste do nado forçado.	19
Figura 6	Efeito do tratamento com óleo de Cróton na dose de 25 mg/kg, via oral, e fluoxetina (20mg/kg, via oral) no teste de campo aberto.	20
Figura 7	Efeito do óleo essencial das folhas de <i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth. (OCH), nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (v.o) sobre a latência para a primeira convulsão induzida por Pilocarpina (400 mg/kg, i.p.).	21
Figura 8	Efeito do óleo essencial das folhas de <i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth. (OCH), nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (v.o) sobre a latência para a morte dos animais, após a indução de convulsões por Pilocarpina (400 mg/kg, i.p.).	21

LISTA DE ABREVIATURAS

CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
DZP	Diazepam
EMP	Estado de Mal Epiléptico
GN	Grupo Controle Negativo
GP	Grupo Controle Positivo
I.P.	Via intraperitoneal
ISRSs	Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina
MS	Ministério da Saúde
NPBIO	Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia e Biodiversidade
OCH	Óleo de <i>Croton heliotropiifolius Kunth</i>
OEs	Óleos Essenciais
OMS	Organização Mundial de Saúde
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SNC	Sistema Nervoso Central
SNRIs	Inibidores da Recaptação da Serotonina-Noradrenalina
SUS	Sistema Único de Saúde
TCA	Teste do Campo Aberto
TCC	Trabalho de Conclusão do Curso
TNF	Teste de nado forçado
TSC	Teste de suspensão pela cauda
UESPI	Universidade Estadual do Piauí
V.O.	Via Oral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Fitoterápicos.....	10
1.1.2 Gênero <i>Croton</i> sp.....	10
1.1.3 Espécie <i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth.....	11
1.2 Depressão e drogas antidepressivas	11
1.3 Epilepsia e drogas anticonvulsivantes	12
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 METODOLOGIA.....	14
3.1 Tipo de estudo	14
3.2 Aspectos éticos e legais/riscos e benefícios (conforme a Res. 466/12).....	14
3.3 Aquisição do óleo essencial.....	14
3.4 Local do estudo.....	14
3.5 Animais	14
3.6 Protocolos Experimentais	15
3.6.1 Administração das drogas	15
3.6.2 Teste do Nado Forçado (TNF).....	15
3.6.3 Teste de Suspensão pela Cauda (TSC)	16
3.6.4 Teste do Campo Aberto (TCA)	17
3.6.5 Teste de Efeito Anticonvulsivante	17
3.7 Análise Estatística.....	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4.1 Teste do Nado Forçado (TNF)	18
4.2 Teste de Suspensão da Cauda (TSC)	19

4.3 Teste do Campo Aberto (TCA).....	19
4.4 Teste de Efeito Anticonvulsivante	21
5 CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS.....	24
ANEXO A - ARTIGO SUBMETIDO COM O PROTOCOLO DE CONVULSÕES.....	27

1 INTRODUÇÃO

1.1 Fitoterápicos

Desde a antiguidade, a humanidade utiliza plantas com propriedades medicinais para tratar ou mitigar diferentes sintomas, ou até mesmo para prevenir doenças. Por meio de uma série de preparações, são produzidos extratos, chás ou poções para uso em enfermidades. Na Babilônia e na Suméria, por exemplo, a papoula era utilizada para o tratamento e alívio da dor. Hoje, sabemos que a morfina (um analgésico opióide de grande potência) é um alcalóide extraído das flores da papoula, justamente pelo conhecimento prévio de que essa planta era usada para tratamento de dores (Duarte, 2005).

Pode-se citar também a tradição dos povos sumérios com o uso de chá do salgueiro para alívio de dores e de febre. A planta foi amplamente utilizada e estudada com o decorrer do tempo e, no século XIX, o ácido acetilsalicílico foi isolado pela primeira vez, sendo desde então uma das medicações mais vendidas da modernidade, servindo para o tratamento de dor e febre, além de servir como profilaxia para eventos tromboembólicos, como infarto agudo do miocárdio e acidente vascular encefálico (Lima; Alvim, 2018).

Na atualidade, a utilização de plantas medicinais e fitoterápicos é uma prática mundialmente disseminada, sendo encorajada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), especialmente em países em desenvolvimento. No Brasil, o uso de fitoterápicos é incentivado pelo Ministério da Saúde (MS), por meio da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), em que é oferecido aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS) por meio de práticas integrativas de saúde, principalmente nas Unidades Básicas de Saúde (BRASIL, 2006).

A PNPIC define a fitoterapia como um tratamento caracterizado pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes apresentações farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas, e reconhece o grande potencial do Brasil para o desenvolvimento dessa terapêutica, por sua extensa diversidade vegetal, sua reconhecida sociodiversidade, pelo uso histórico de plantas medicinais vinculado ao conhecimento tradicional e pela posse de tecnologia para validar cientificamente este conhecimento (BRASIL, 2006).

1.1.2 Gênero *Croton* sp.

O gênero *Croton* possui mais de 1200 espécies, distribuídas principalmente desde a região tropical do Panamá até o Brasil, sendo que apenas no Brasil existem mais de 300

espécies. Essas plantas são largamente utilizadas na medicina popular, e o gênero vem demonstrado grande importância econômica, fundamentada principalmente nos seus óleos essenciais e nas numerosas substâncias bioativas que existem nessas plantas, que ajudam a explicar seu largo uso popular. Algumas propriedades medicinais já foram comprovadas cientificamente, apontando o gênero como um forte candidato para a produção de novos fármacos, por meio da fitoterapia (Cavalcanti *et al.*, 2020).

1.1.3 Espécie *Croton heliotropiifolius* Kunth.

Croton heliotropiifolius Kunth., popularmente conhecida como velame ou marmeleiro-branco, é uma espécie do gênero *Croton* endêmica do Nordeste do Brasil, e é frequentemente encontrada na vegetação do bioma Caatinga (Fernandes *et al.*, 2021; Magalhães *et al.*, 2021). O chá de suas raízes é popularmente utilizado no tratamento de resfriados, dores em geral, inflamação, dermatite, artrite reumatóide e infecções fúngicas (Almeida *et al.*, 2022; de Oliveira Junior *et al.*, 2017; Leite *et al.*, 2017; Magalhães *et al.*, 2021; Malafaia *et al.*, 2018; Saraiva *et al.*, 2015; Silva-Alves *et al.*, 2021; Xu; Liu; Liang, 2018). O chá das folhas e das cascas da árvore também é utilizado para controle de sintomas gastrointestinais (Cordeiro *et al.*, 2012; Queiroz *et al.*, 2014).

Os extratos vegetais e óleos essenciais possuem, em sua composição, uma variedade de substâncias ativas chamadas de metabólitos secundários, dentre eles, destacam-se os monoterpenos (Basappa *et al.*, 2015). Estudos realizados com o óleo essencial das folhas da espécie *Croton heliotropiifolius* apresentaram como constituintes químicos uma mistura de monoterpenos e sesquiterpenos (Torres *et al.*, 2021).

Sabe-se que os monoterpenos têm diversas propriedades descritas na literatura, como miorrelaxante, principalmente em músculo liso, antimicrobiano, antiespasmódico, antidepressivo, anti-inflamatório, cardio-estimulante, depressor do trânsito intestinal, ansiolítico e anticonvulsivante (Almeida *et al.*, 2003; Alkharfy *et al.*, 2018; Manayi *et al.*, 2016; Ngo Bum *et al.*, 2001; Oz *et al.*, 2015).

1.2 Depressão e drogas antidepressivas

A depressão é um transtorno mental que afeta mais de 264 milhões de pessoas, de todas as idades, no mundo. Os transtornos depressivos são caracterizados por humor rebaixado ou perda de capacidade de experimentar prazer, acompanhada de outros sintomas cognitivos, comportamentais e neurovegetativos que afetam significativamente a capacidade funcional do indivíduo (WHO, 2018).

A Organização Mundial de Saúde aponta a depressão como uma das maiores causas de incapacidade e a doença com maior impacto na carga global de doenças. Em todo o mundo, a depressão é mais frequente em mulheres e, nas formas severas, pode levar ao suicídio (WHO, 2013).

No Brasil, estima-se que 16,3 milhões de pessoas receberam diagnóstico de depressão por profissional de saúde mental, de acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) 2019. Esse número representa 10,2% das pessoas de 18 anos ou mais de idade, um aumento significativo em relação à Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) 2013, quando 7,6% das pessoas de 18 anos ou mais de idade referiram a mesma condição (BRASIL, 2014; BRASIL, 2020).

Embora sejam realizadas intensas pesquisas sobre esta doença, a etiologia e patogênese da depressão ainda não estão bem esclarecidas. Existem estudos pré-clínicos e clínicos sugerindo que os neurotransmissores monoaminas como a serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) e dopamina (DA) no sistema nervoso central exerçam uma importante participação na fisiopatologia da depressão (Mozdzen et al., 2017).

As primeiras drogas antidepressivas eficazes: uma monoamina inibidora de oxidase (MAO), a iproniazida, e um inibidor tricíclico da recaptação de noradrenalina e serotonina (TCA), a imipramina, foram descobertas por acaso, mas uma vez que sua eficácia clínica foi estabelecida, novos compostos com um mecanismo de ação similar foram sintetizados e introduzidos na clínica (Vetulani; Nalepa, 2000).

Apesar dos avanços no tratamento medicamentoso da depressão, com os inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRSs) e os inibidores da recaptação da serotonina-noradrenalina (SNRIs), ainda há diversas necessidades clínicas não alcançadas no que diz respeito tanto à eficácia quanto à presença de efeitos colaterais (Mozdzen et al., 2017).

1.3 Epilepsia e drogas anticonvulsivantes

As desordens do sistema nervoso central (SNC) requerem atenção, pois podem gerar impactos em diversos aspectos do comportamento humano, como pensamento, memória, linguagem, emoções, sensações e movimentos. Essa compreensão é especialmente relevante no caso da epilepsia, um distúrbio crônico que afeta o SNC, sendo a crise epiléptica sua manifestação mais notável, envolvendo diversos elementos desse comportamento (Melo et al., 2005).

Do ponto de vista epidemiológico, a epilepsia é bastante comum: aproximadamente

1% da população apresenta epilepsia ativa, 3% têm recorrência de crises e pelo menos 9% experimentaram ao menos uma crise convulsiva em algum momento da vida (Melo et al., 2005).

Vários fatores podem provocar crises epiléticas, mas um conceito amplamente aceito é que elas ocorrem quando há uma quebra no equilíbrio entre a excitação e a inibição no cérebro. Normalmente, existem mecanismos que promovem a atividade neuronal adequada e outros que regulam essa atividade, evitando descargas excessivas de potenciais de ação. Quando há um desequilíbrio entre esses mecanismos, pode resultar na ocorrência de crises (Silva; Cabra, 2008).

Apesar do crescimento exponencial no número de medicamentos antiepiléticos disponíveis no mercado, a prevalência de pacientes com convulsões intratáveis continua elevada, e os desafios relacionados aos tratamentos convencionais, em particular a resistência aos fármacos, permanecem significativos, afetando mais de 30% dos indivíduos (Chen et al., 2018). Em resposta a essa questão, uma série de investigações tem sido realizada com o intuito de desenvolver novas alternativas terapêuticas que apresentem um perfil de segurança aprimorado e propriedades neuroprotetoras (De Sousa et al., 2006; Ezz et al., 2011; Perucca, 2017; Pina et al., 2021).

Desse modo, pode-se justificar o presente estudo na avaliação do efeito do óleo essencial de *C. heliotropiifolius* sobre a depressão e epilepsia, a partir de testes pré-clínicos em animais, na tentativa de uma nova estratégia terapêutica possível para o tratamento e controle destes distúrbios psiquiátricos e neurológicos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Investigar os efeitos antidepressivo e anticonvulsivante do óleo essencial das folhas de *Croton heliotropiifolius* Kunth em modelos animais.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar o efeito antidepressivo de doses crescentes de óleo de *Croton heliotropiifolius* Kunth (OCH), administrado pela via oral (v.o), no teste do nado forçado (TNF) e no teste de suspensão pela cauda (TSC);

- Avaliar a coordenação motora e o possível relaxamento muscular sob efeito do OCH em doses crescentes, administrado por via oral, através do teste de campo aberto (TCA) em camundongos;

- Investigar o efeito anticonvulsivante do OCH, através de convulsões induzidas por pilocarpina.

3 METODOLOGIA

3.1 Tipo de estudo

Trata-se de um projeto experimental, em que foram usados camundongos da espécie *Mus musculus* para realização dos protocolos experimentais.

3.2 Aspectos éticos e legais/riscos e benefícios (conforme a Res. 466/12)

Os projetos foram submetidos à Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Piauí - CEUA/UESPI, para apreciação, sendo aprovados com os protocolos **003360/2021-73** e **006201/2022-10**. Todos os protocolos experimentais com animais estão de acordo com a Lei Nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, que estabelece as normas para o uso de experimentação animal.

A atividade de acesso ao Conhecimento Tradicional Associado, nos termos exigidos pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado - SisGen, em atendimento ao previsto na Lei no 13.123/2015 e seus regulamentos, foi cadastrada sob o número: **A8B513F**.

3.3 Aquisição do óleo essencial

O óleo essencial das folhas de *Croton sp.* foi adquirido através de parceria com o professor Francisco Artur Silva Filho, do Campus Parnaíba, da Universidade Estadual do Piauí.

3.4 Local do estudo

O projeto foi realizado no Núcleo de Biotecnologia e Biodiversidade (NPBIO), vinculado a Universidade Estadual do Piauí (UESPI).

3.5 Animais

Foram utilizados camundongos albinos (*Mus musculus*), variedade *Swiss*, adultos, machos, pesando entre 25 e 30 g, acondicionados em gaiolas de acrílico e mantidos a 22

$\pm 2^{\circ}\text{C}$ com água e comida *ad libitum*, em um ciclo claro/escuro 12:12 horas. Os animais foram provenientes do Biotério do Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia e Biodiversidade da UESPI. Após os procedimentos experimentais, os animais foram eutanasiados com sobredose de Pentobarbital sódico, 150 mg/kg, via intraperitoneal (i.p.), associado a 10 mg/Kg de lidocaína.

3.6 Protocolos Experimentais

3.6.1 Administração das drogas

Para cada teste comportamental, ou seja, TNF, TSC e TCA, os animais foram divididos em 5 grupos, com 6 animais por grupo:

- Grupo Controle Negativo (GN), cujos animais receberam veículo de 0,1ml/10g de peso;
- Grupos Teste (GT), cujos animais receberam óleo de *Croton heliotropiifolius* Kunth (OCH) em três doses diferentes (25; 50; 100 mg/Kg);
- Grupo Controle Positivo (CP), ao qual foi administrado uma droga antidepressiva de referência, fluoxetina (20 mg/Kg).

Todos os compostos utilizados foram administrados por via oral (gavagem), em dose única, 60 min antes de cada teste comportamental.

3.6.2 Teste do Nado Forçado (TNF)

O TNF foi realizado conforme o método descrito por Porsolt *et al.* (1977). Os camundongos de cada grupo foram colocados em um cilindro plástico de 10 cm de diâmetro e 24 cm de altura, contendo 19 cm de altura de água, à temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. O tempo de imobilidade do animal foi definido como a ausência de movimentos ativos, ou seja, movimentos necessários apenas para manter sua cabeça acima da água e, quando o animal estava flutuando, o tempo foi cronometrado durante 6 minutos.



Figura 1: Representação do Teste do Nado Forçado (Arquivo pessoal)

3.6.3 Teste de Suspensão pela Cauda (TSC)

O TSC foi realizado conforme o método descrito por Steru *et al.* (1985). Os camundongos foram suspensos 50 cm acima do chão por uma fita adesiva e o tempo de imobilidade registrado durante 6 minutos. Os animais foram isolados acusticamente e visualmente. Os camundongos foram considerados imóveis apenas quando pendurados passivamente e completamente imóveis.



Figura 2: Representação do Teste de Suspensão pela cauda (Arquivo pessoal)

3.6.4 Teste do Campo Aberto (TCA)

Este modelo foi realizado de acordo com o que foi proposto por Hall (1934) para a avaliação da atividade locomotora dos animais. Cada camundongo foi colocado no centro da gaiola onde foi registrado o número de quadrantes cruzados em um período de 6 minutos. O aparato consiste em uma caixa de vidro medindo 40x60x50 cm, com o chão dividido em 9 quadrantes iguais.

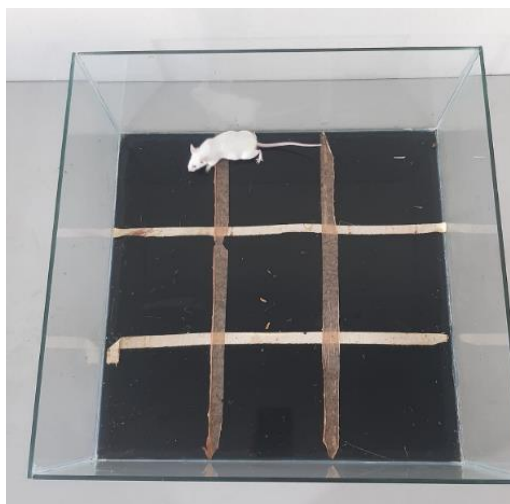


Figura 3: Representação do Teste do Campo Aberto (Arquivo pessoal)

3.6.5 Teste de Efeito Anticonvulsivante

A administração de pilocarpina em altas doses gera o chamado *status epilepticus* ou estado de mal epilético (EMP), uma crise duradoura que causa lesão cerebral similar a um quadro epileptogênico em humanos (Turski *et al.*, 1983; Mathern *et al.*, 1996).

Assim, os animais foram divididos em 5 grupos, com 6 animais por grupo:

- Grupo Controle Negativo (GN), cujos animais receberam solução veículo a 5%;
- Grupos Teste (GT), cujos animais receberam óleo de *Croton heliotropiifolius* Kunth (OCH) nas doses de 50, 100 e 200mg/kg;
- Grupo Controle Positivo (CP), ao qual foi administrado Diazepam (DZP) na dose de 4mg/kg, considerado como droga padrão de ação anticonvulsivante.

Já a indução de epilepsia pela pilocarpina foi feita com a dose de 400 mg/kg (i.p.) de pilocarpina, para todos os animais. Também foi realizado um tratamento prévio (30 min) à pilocarpina com metil-escolamina 1 mg/kg (Sigma Chemical CO), via

subcutânea. A administração da metil-escopolamina teve por finalidade atenuar os efeitos periféricos provocados pela injeção de pilocarpina.

Para comparar a severidade das convulsões entre os grupos, após a administração deste agente químico, foi feita observação dos seguintes parâmetros: surgimento de sinais colinérgicos periféricos (miose, diarreia, micção excessiva), movimentos estereotipados (lamber e cheirar a pata), tremores, convulsões, latência para o aparecimento das convulsões, latência de morte e taxa de mortalidade. Cada animal foi observado durante o período de 1 hora (Zhu *et al.*, 2008; Cavalheiro, 1996).

3.7 Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando One-Way ANOVA seguido do pós teste de Tukey. Para todos os testes foi considerado um nível de significância de 5%. Os resultados foram expressos como médias e desvio padrão. O resultado foi considerado positivo quando houve um aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teste do Nado Forçado (TNF)

Observou-se, nos grupos que receberam as doses de 25, 50 e 100 mg/kg de OCH, diminuição significativa do tempo de imobilidade, sendo as médias \pm desvio padrão de $3,040 \pm 4,72$, e $2,30 \pm 2,23$ e $2,53 \pm 2,40$, respectivamente, com relação ao grupo controle negativo ($27,04 \pm 9,14$). O grupo que recebeu fluoxetina (20 mg/kg) também reduziu o tempo de imobilização com $2,77 \pm 1,91$ (Figura 4).

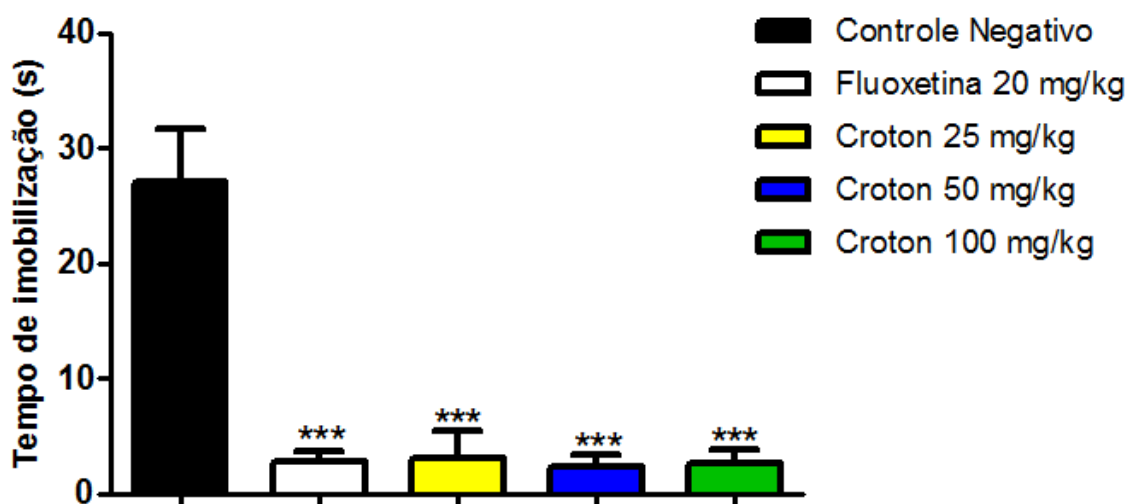


Figura 4: Efeito do tratamento com óleo de Cróton (25, 50 e 100 mg/kg, via oral) e fluoxetina (20mg/kg, via oral) no parâmetro tempo de imobilidade em camundongos machos submetidos ao teste do nado forçado. Obs.: Os resultados estão representados como média \pm desvio padrão. Os dados foram analisados por análise de variância ANOVA, seguido do teste de Tukey, *** $p < 0,001$.

4.2 Teste de Suspensão da Cauda (TSC)

Observou-se, nos grupos que receberam as doses de 25, 50 e 100 mg/kg de OCH, diminuição significativa do tempo de imobilidade enquanto o animal ficou suspenso pela cauda, sendo as médias \pm desvio padrão da média de $44,24 \pm 15,24$, $35,24 \pm 16,96$ e $21,02 \pm 20,64$, respectivamente, com relação ao grupo controle negativo ($119,10 \pm 36,64$). O grupo que recebeu fluoxetina (20 mg/kg) também reduziu o tempo de imobilização com $15,45 \pm 19,29$ (Figura 5).

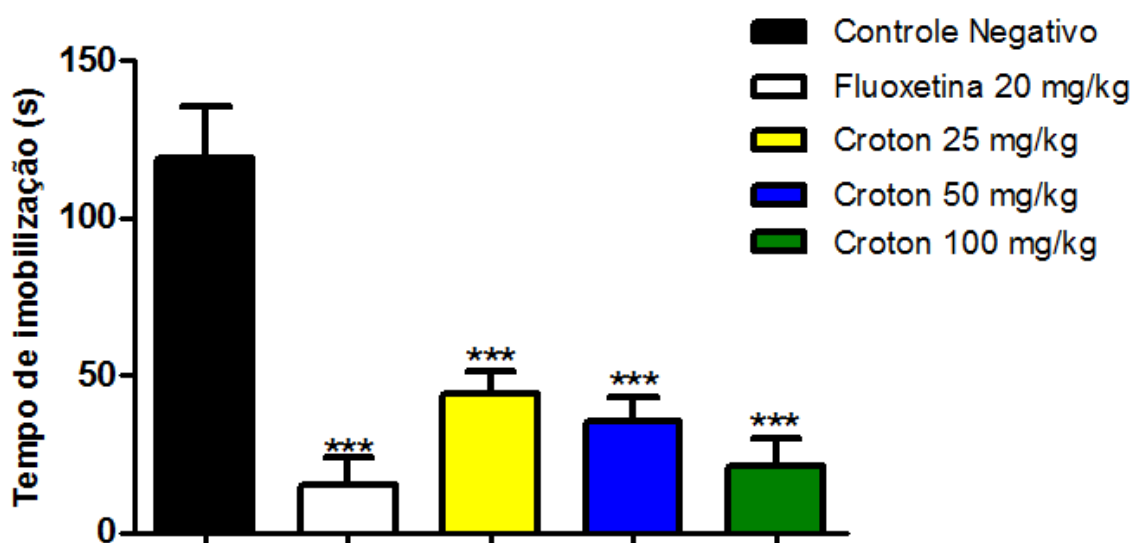


Figura 5: Efeito do tratamento com óleo de Cróton (25, 50 e 100 mg/kg, via oral) e fluoxetina (20mg/kg, via oral) no parâmetro tempo de imobilidade em camundongos machos submetidos ao teste da suspensão pela cauda. Obs.: Os resultados estão representados como média \pm desvio padrão. Os dados foram analisados por análise de variância ANOVA, seguido do teste de Tukey, *** $p < 0,001$.

4.3 Teste do Campo Aberto (TCA)

A partir dos testes anteriores, escolheu-se a menor dose efetiva - 25 mg/kg de OCH - para o TCA. O grupo que recebeu esta dose ($44,00 \pm 9,41$) não apresentou diferença

significativa com relação ao grupo controle negativo ($41,60 \pm 9,96$), assim como o grupo que recebeu fluoxetina ($34,40 \pm 23,73$) (Figura 6).

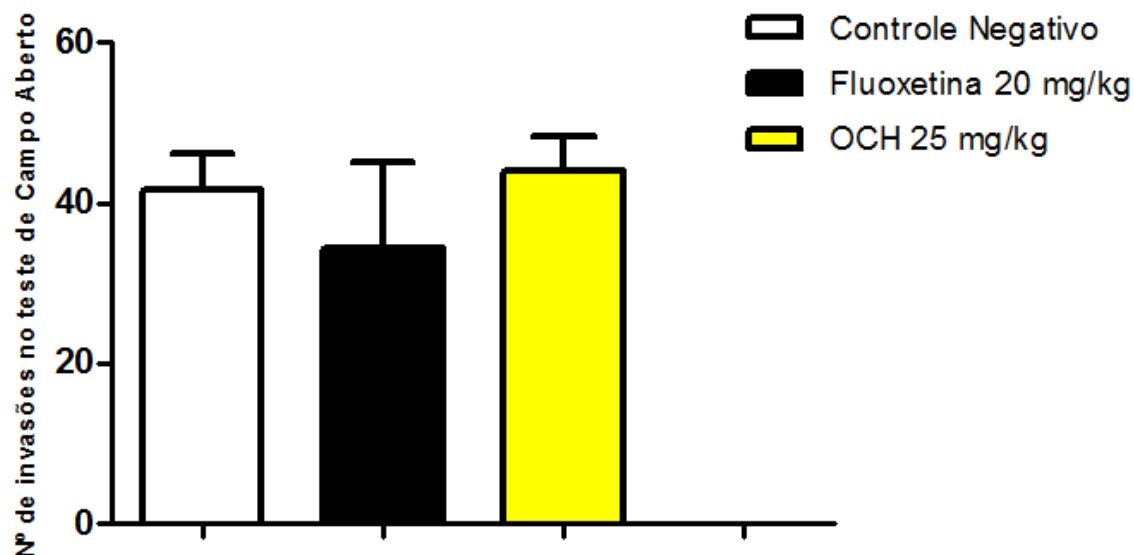


Figura 6: Efeito do tratamento com óleo de Croton na dose de 25 mg/kg, via oral, e fluoxetina (20mg/kg, via oral) no teste de campo aberto. Obs.: Os resultados estão representados como média \pm desvio padrão. Os dados foram analisados por análise de variância ANOVA, seguido do teste de Tukey, *** $p < 0,001$.

Os dados obtidos nos testes TSC e TNF sugerem que o óleo de cróton possui efeito antidepressivo nas concentrações testadas, resultado congruente com as propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes deste óleo essencial, uma vez que dentre os diversos fatores atualmente estudados no desenvolvimento da depressão, a ativação inflamatória do sistema imune tem sido explorada. Além disso, sabe-se que antidepressivos validados para uso clínico diminuem a inflamação, e que níveis basais mais elevados de inflamação predizem menor eficácia da maior parte dos tratamentos conhecidos (Silva, 2017; Lee; Giuliani, 2019).

Já nos dados obtidos do TCA, observou-se que o óleo essencial não tem ação estimulante sobre atividade motora dos animais e também não causa relaxamento muscular nos animais testados com a dose de 25 mg/kg, diferenciação importante para eliminar possíveis confundidores nos demais testes.

Assim, protocolos adicionais para confirmação e descrição acurada deste efeito devem ser realizados, como avaliação de mecanismos de ação nas diferentes vias de neurotransmissão do corpo humano e estudos *in silico* para confirmar e ou buscar novos mecanismos de ação dos constituintes do óleo.

4.4 Teste de Efeito Anticonvulsivante

Após os tratamentos com veículo (0,1mL/10g de animal, v.o.), Diazepam (4 mg/kg, i.p.) e OCH (50, 100 e 200 mg/kg, v.o.), observou-se aumento da latência de 1ª convulsão no grupo de animais que recebeu a dose de 200 mg/kg ($p < 0,01$) e Diazepam ($p < 0,01$), quando comparados ao controle negativo (Figura 7).

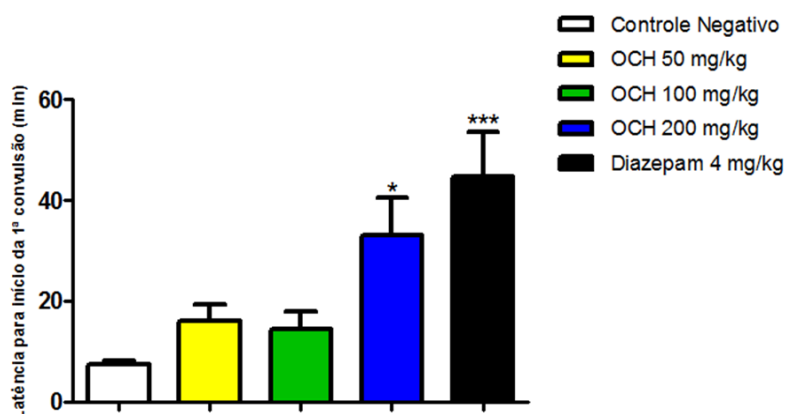


Figura 7: Efeito do óleo essencial das folhas de *Croton heliotropiifolius* Kunth. (OCH), nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (v.o.) sobre a latência para a primeira convulsão induzida por Pilocarpina (400mg/kg, i.p.). Obs.: Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão (N=6). Diferença estatisticamente significativa se $p < 0,05$ (ANOVA, seguido pelo pós-teste

de Tukey), sendo $*p < 0,05$ e $***p < 0,001$ comparados ao grupo controle negativo.

Com os resultados apresentados na figura 7, possivelmente, o OCH interferiu nos eixos de transmissão serotoninérgica e dopaminérgica, aumentando o tempo de latência para o acontecimento da primeira convulsão. Com relação à latência de morte, verificou-se aumento na latência de morte dos animais pré-tratados com OCH 200 mg/kg ($**p < 0,01$) e Diazepam ($***p < 0,001$), com relação ao grupo controle negativo (Figura 8).

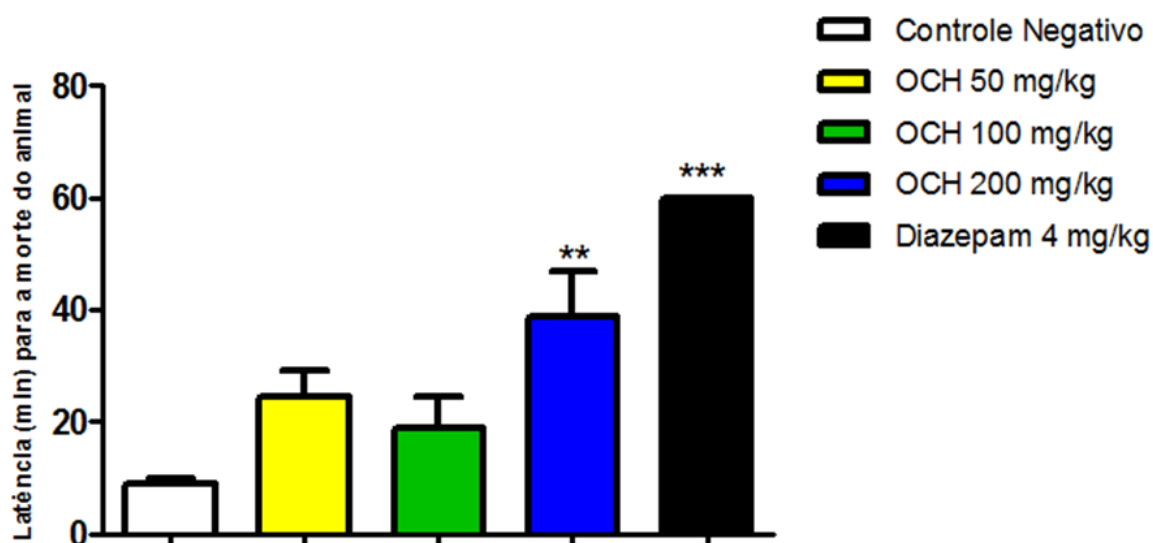


Figura 8: Efeito do óleo essencial das folhas de *Croton heliotropiifolius* Kunth. (OCH), nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (v.o) sobre a latência para a morte dos animais, após a indução de convulsões por Pilocarpina (400 mg/kg, i.p.). Obs.: Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão (N=6). Diferença estatisticamente significativa se $p < 0,05$ (ANOVA seguido pelo pós-teste de Tukey), sendo ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$, em relação ao grupo controle negativo.

Sabe-se que a pilocarpina (em doses a partir de 300 mg/kg) provoca crises que se iniciam com parada comportamental, automatismos orofaciais, clonais de membros anteriores que evoluem para crises focais e generalizadas (tônico-clônicas) nos primeiros 90 minutos após a administração, culminando com o status epilepticus (Curia *et al.*, 2008). Assim, estudos recentes indicam que o comprometimento da neurotransmissão serotoninérgica e dopaminérgica, assim como funções do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) se correlacionam com as expressões comportamentais no modelo da Pilocarpina (Szyndler *et al.*, 2002).

Nesse sentido, os monoterpenos são compostos bioativos presentes em diversos óleos essenciais, os quais demonstram efeitos sobre receptores GABA (Manayi *et al.*, 2016), canais iônicos (Oz *et al.*, 2015) e processos inflamatórios (Alkharfy *et al.*, 2018). Alguns monoterpenos, como a verbenona e o 4-terpineol, já foram descritos por terem capacidade anticonvulsivante e com redução dos efeitos periféricos durante as crises convulsivas induzidas por diversas substâncias excitatórias (Ngo Bum *et al.*, 2001).

Estudo realizado com extrato etanólico da raiz de *Croton zambesicus*, induzido por pentilenotetrazol (PTZ), atrasou significativamente ($p < 0,01-0,001$) o início da doença clônica e convulsão tônica causada por PTZ quando comparado ao controle (Okokon; Anwafor, 2009). Resultado semelhante ao encontrado neste estudo, de acordo com a figura 7.

Estudos com doses de 200 e 400 mg/kg (i.p.) do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*, constituído de vários monoterpenos, também indicaram aumento significativo do período de latência e reduziu a frequência das convulsões. A frequência de sobrevivência foi significativamente aumentada com uso de OE 200 e 400 mg/kg (i.p.). Diazepam (3 mg/kg, ip) protegeu completamente os animais contra a convulsão tônica provocada pelo Pentilenotetrazol (60 mg/kg, i.p.) (Quintans-Júnior, 2008). No entanto, no presente estudo a neuroproteção do OCH não foi avaliada longitudinalmente, sendo necessárias análises complementares.

5 CONCLUSÃO

Em relação ao efeito antidepressivo e ao efeito anticonvulsivante, este estudo sugere as potencialidades de ação do óleo de cróton, derivado de uma espécie amplamente encontrada na biota brasileira, em patologias do sistema nervoso central, como a depressão e a epilepsia, e abre portas para que novas pesquisas sejam realizadas, em alinhamento com os esforços da comunidade científica internacional para a descoberta de novas linhas terapêuticas para a depressão e a convulsão, transtornos tão prevalentes.

O estudo apresenta limitações inerentes a pesquisas pré-clínicas, ademais o trabalho não apresenta análises bioquímicas ou histológicas, motivo que limita a compreensão dos mecanismos neurológicos envolvidos, e não foi possível avaliar a toxicidade, a biodisponibilidade, a neuroproteção a médio e longo prazo, nem a possível interação dos constituintes do óleo essencial com vias neurotransmissoras conhecidas. Sugere-se, assim, a realização de ensaios complementares, com estudos *in silico* e *in vitro*, para que os resultados promissores sejam validados em futuras investigações translacionais.

REFERÊNCIAS

- ABELAIRA, H. M.; RÉUS, G. Z.; QUEVEDO, J.. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 35, p. S112–S120, 2013.
- ALMEIDA, R. N.; MOTTA, S. C.; LEITE, J. R. Óleos essenciais com propriedades anticonvulsivantes. **Bol. Latinoam. Caribe Plantas Méd Aromat** 2:3-6, 2003.
- ALMEIDA, T. J. O.; DE OLIVEIRA, A. P. D.; SANTOS, T. M. B.; DIAS, F. S. Antistaphylococcal and antioxidant activities of bacteriocinogenic lactic acid bacteria and essential oil in goat coalho cheese. **J. Appl. Microbiol.**, [S.L.], v. 133, p. 2014–26, 2022.
- ALKHARFY, K. M. et al. Thymoquinone reduces mortality and suppresses early acute inflammatory markers of sepsis in a mouse model. **Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie**, v. 98, p. 801–805, fev. 2018.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Anim. Behav.**, v.21, n.2, p.205-235, 1973.
- BASAPPA, G. et al. Chemical composition, biological properties of *Anisomeles indica* Kuntze essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 89–96, 23 dez. 2015.
- BATLOUNI, Michel. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S.L.], v. 94, n. 4, p. 556-563, abr. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0066-782x2010000400019>.
- BEZERRA, A.J.N.; SILVA, F.C.O.; SILVA, A.W. da; FERREIRA, M.K.A.; MARINHO, E.M.; MARINHO, M.M.; MAGALHÃES, F.E.A.; BANDEIRA, P. N.; TEIXEIRA, A.M.R.; MARINHO, E.S.. Antinociceptive effect of triterpene acetyl aleuritolic acid isolated from *Croton zehntneri* in adult zebrafish (*Danio rerio*). **Biochemical And Biophysical Research Communications**, [S.L.], v. 534, p. 478-484, jan. 2021. Elsevier BV.
- BRASIL. IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. . **Pesquisa Nacional de Saúde 2019**: percepção do estado de saúde, estilos de vida, doenças crônicas e saúde bucal: Brasil e grandes regiões. Rio de Janeiro: Ibge, 2020. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101764.pdf>. Acesso em: 14 março 2022.
- BRASIL. IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. . **Pesquisa Nacional de Saúde 2013**: percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas: Brasil, grandes regiões e unidades da federação. Rio de Janeiro: IBGE, 2014. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv91110.pdf>. Acesso em: 14 março 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS: PNPIC-SUS**. 2006.
- CAVALHEIRO, E.A. The pilocarpine model of epilepsy. **Ital J Neurol Sci**, v. 16, n. 1-2, p.33-7, 1996.
- CAVALCANTI, D.F.G.; DA SILVEIRA, D.M.; DA SILVA, G.C. Aspectos e potencialidades biológicas do gênero *Croton*(Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 45931-45946, 2020.

CHEN, Z. et al. Treatment Outcomes in Patients With Newly Diagnosed Epilepsy Treated With Established and New Antiepileptic Drugs: A 30-Year Longitudinal Cohort Study. **JAMA neurology**, v. 75, n. 3, p. 279–286, 01 2018.

CORDEIRO, K. W.; PINTO, FORMAGIO, L. A.; A. S. N.; DE ANDRADE, S. F.; KASSUYA, C. A. L.; FREITAS, K. C. **J. Ethnopharmacol**, [S.L.], v. 143, p. 331–37, 2012.

CURIA, Giulia; LONGO, Daniela; BIAGINI, Giuseppe; JONES, Roland S.G.; AVOLI, Massimo. The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. **Journal Of Neuroscience Methods**, [S.L.], v. 172, n. 2, p. 143-157, jul. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.04.019>.

DA FONSÊCA, D. V. et al. Anticonvulsant Essential Oils and Their Relationship with Oxidative Stress in Epilepsy. **Biomolecules**, v. 9, n. 12, 06 2019

DE OLIVEIRA JUNIOR, R. G. et al. Antinociceptive effect of the essential oil from *Croton conduplicatus* Kunth (Euphorbiaceae). **Molecules**, v. 22, p. 900, 2017.

DE SOUSA, D. P.; DE SOUSA OLIVEIRA, F.; DE ALMEIDA, R. N. Evaluation of the central activity of hydroxydihydrocarvone. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 4, p. 811– 812, abr. 2006.

DUARTE, D. F.. Uma breve história do ópio e dos opióides. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 55, n. 1, p. 135–146, jan. 2005.

FERNANDES, P. A. S. et al. Chemical constituents and biological activities of *Croton heliotropiifolius* Kunth. **Antibiotics**, [S.L.], v. 10, p. 1074, 2021.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal Of Comparative Psychology**, [S.L.], v. 18, n. 3, p. 385-403, 1934. American Psychological Association (APA). <http://dx.doi.org/10.1037/h0071444>.

KAMAL, Ola Mohamed-Fathy et al. Technical Assessment of Motor and Behavioral Tests in Rodent Models of Multiple Sclerosis. **Journal Of Integrative Neuroscience**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 1-19, 21 fev. 2025. IMR Press. <http://dx.doi.org/10.31083/jin26429>.

LEE, C. H.; Giuliani, F. The Role of Inflammation in Depression and Fatigue. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 1696, 2019.

LEITE, T. R. et al. Antimicrobial, modulatory and chemical analysis of the oil of *Croton limae*. **Pharmaceut. Biol**, v. 55, p. 2015–19, 2017.

LIMA, A.S., ALVIM, H.G.O. Revisão sobre Anti-inflamatórios Não-Esteroidais: Ácido Acetilsalicílico. **Rev Inic Cient Ext**. 2018; 1(Esp): 169-74

MAGALHAES, P. K. et al. Estudo etnobotânico e etnofarmacológico de plantas medicinais utilizadas por uma comunidade tradicional do nordeste brasileiro. **Braz. J. Biol.**, v. 82: e237642, 2021.

MALAFIA, C. B. et al. Effects of caatinga plant extracts in planktonic growth and biofilm formation in *Ralstonia solanacearum*. **Microb. Ecol.**, v. 75, p. 555–61, 2018.

MANAYI, A. et al. Natural terpenoids as a promising source for modulation of GABAergic system and treatment of neurological diseases. **Pharmacological reports: PR**, v. 68, n. 4, p. 671–679, ago. 2016.

MATHERN, G.W. *et al.* The pathogenic and progressive features of chronic human hippocampal epilepsy. **Epilepsy research**, v.26, n.1, p.151-161, 1996.

MELO, Áurea Nogueira de; YAKUBIAN, Elza Márcia; LOPES-CENDES, Iscia; FONTENELLE, Lucia da Costa; TEIXEIRA, Wagner Afonso; NUNES, Magda Lahorgue. A inserção da epilepsia no ensino médico (graduação). **Journal Of Epilepsy And Clinical Neurophysiology**, [S.L.], v. 11, n. 41, p. 7-10, dez. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-26492005000500002>.

MOZDZEN, Edyta; WASIK, Agnieszka; ROMANSKA, Irena; MICHALUK, Jerzy; ANTKIEWICZ-MICHALUK, Lucyna. Antidepressant-like effect of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline and its methyl derivative in animal models of depression. **Pharmacological Reports**, [S.L.], v. 69, n. 3, p. 566-574, jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharep.2017.01.032>.

NGO BUM E.; 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). **J Ethnopharmacol**, v. 76, p. 145-150, 2001.

OKOKON,J; ANWAFOR,P. antiulcer and anticonvulsant activity of croton zambesicus; **Journal of Pharmaceutical Sciences**., Vol.22, No.4, pp.384-390.2009.

OZ, M. *et al.* Effects of monoterpenes on ion channels of excitable cells. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 152, p. 83–97, ago. 2015.

PERUCCA, E. Cannabinoids in the Treatment of Epilepsy: Hard Evidence at Last? **Journal of Epilepsy Research**, v. 7, n. 2, p. 61–76, 31 dez. 2017.

PINA, L. T. S. *et al.* Monoterpenes as a perspective for the treatment of seizures: A Systematic Review. **Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology**, v. 81, p. 153422, jan. 2021.

PORSOLT, R. D. *et al.* Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, 266(5604), 730–732, 1977.

QUEIROZ, M. M. F. *et al.* Antifungals and acetylcholinesterase inhibitors from the stem bark of *Croton heliotropiifolius*. **Phytochem**, v. 10, p. 38-93, 2014.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J. *et al.* Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. **Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology**, v. 15, n. 8, p. 619–624, ago. 2008.

SARAIVA, M. E. *et al.* Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. **J. Ethnopharmacol**, v. 171, p. 141–53, 2015.

SILVA, Alexandre Valotta da; CABRA, Francisco Romero. Ictogênese, Epileptogênese e Mecanismo de Ação das Drogas na Profilaxia e Tratamento da Epilepsia. **Journal Of Epilepsy And Clinical Neurophysiology**, São Paulo, v. 2, n. 14, p. 39-45, out. 2008.

SILVA, Jéssica de Andrade Gomes. **Investigação fitoquímica e biológica de folhas do *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae)**. 2017. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SILVA-ALVES, K. S. *et al.* Essential oil of *Croton zehntneri* prevents conduction alterations produced by diabetes mellitus on vagus nerve. **Plants**, v. 10, p. 893, 2021.

STERU, Lucien *et al.* The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, [S.L.], v. 85, n. 3, p. 367-370, mar. 1985. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00428203>.

SZYNDLER, Janusz; ROK, Paulina; MACIEJAK, Piotr; WALKOWIAK, Jerzy; CZŁONKOWSKA, Agnieszka I.; SIENKIEWICZ-JAROSZ, Halina; WISŁOWSKA, Aleksandra; ZIENOWICZ, Małgorzata; LEHNER, Małgorzata; BIDZIŃSKI, Andrzej. Effects of pentylenetetrazol-induced kindling of seizures on rat emotional behavior and brain monoaminergic systems. **Pharmacology Biochemistry And Behavior**, [S.L.], v. 73, n. 4, p. 851-861, nov. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0091-3057\(02\)00912-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0091-3057(02)00912-7)

TORRES, M.C.M.; LUZ, M.A.; OLIVEIRA, F.B.; BARBOSA, A.J.C.; ARAÚJO, L.G. Composição química do óleo essencial das folhas de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.2, p. 15862-15872, 2021.

TURSKI, W. A. *et al.* The role of inflammation in epilepsy. **Nature Reviews Neurology**, v. 7, n.1, p.31-40, 2001.

VETULANI, Jerzy; NALEPA, Irena. Antidepressants: past, present and future. **European Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 405, n. 1-3, p. 351-363, set. 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0014-2999\(00\)00565-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0014-2999(00)00565-3).

XU, W. H.; LIU, W. Y.; LIANG, Q. Chemical constituents from *Croton* species and their biological activities. **Molecules**, v. 23, p. 2333, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). International Classification of Diseases 11th revision. World Health Organization, 2018. Disponível em: <https://www.who.int/classifications/icd/en/>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Mental health action plan 2013-2020. World Health Organization, 2013. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/89966>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). WHO traditional medicine strategy: 2014-2023. World Health Organization, 2013. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/92455>

ZHU, H.L. *et al.* Medicinal compounds with antiepileptic/anticonvulsant activities. **Epilepsia**, v.55, n. 1, p.3-16, 2014.

ANEXO A - ARTIGO SUBMETIDO COM O PROTOCOLO DE CONVULSÕES

Anticonvulsant potential of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth: *In vivo* and *in silico* approach

Maria Elane S. da Cunha[§], Angélica L. Soares[§], Esdras M. S. Lima[§], Francisco A. S. Filho[#], Ricardo M. Ramos[‡], Rosemarie B. Marques[¶], Evandro Paulo S. Martins[§]✉

[§] Postgraduate Program in Chemistry, State University of Piauí, Teresina, PI 64002-150, Brazil

[‡] State University of Piauí, Campus Antonio Giovanne Alves de Sousa, Piripiri, PI 64260-000, Brazil

[§] State University of Piauí, FACIME, Teresina, PI 64002-150, Brazil

[#] State University of Piauí, Campus Professor Alexandre Alves de Oliveira, Parnaíba, PI, Brazil

[‡] Laboratory of Molecular Biology and Epidemiology (LABME), Federal Institute of Education, Science and Technology of Piauí, Teresina, PI 64002-150, Brazil

[¶] Biotechnology and Biodiversity Research Center, State University of Piauí, Teresina, PI 64002-150, Brazil

ABSTRACT: Epilepsy is a chronic disease that affects the quality of life of thousands of people, highlighting the need to identify safe and effective anticonvulsant agents. In this context, medicinal plants have emerged as a promising source of bioactive compounds for the treatment of epilepsy. In this study, we carried out an *in vivo* and *in silico* investigation of the anticonvulsant activity of the essential oil from the leaves of the *Croton heliotropiifolius* Kunth (OCH) plant. The results obtained through *in vivo* experiments revealed that the essential oil had an anticonvulsant effect by promoting a significant increase in the latency of the first seizure and in the survival rate of the animals treated with OCH at a dose of 200 mg/kg. To understand the possible receptors and sites of action of the compounds in the oil, we carried out a molecular docking study focusing on the GABA_A and NMDA receptors. In addition, the electronic properties of the phytoconstituents were calculated at the B3LYP/6-311++G(d,p)/SMD level. The results of the molecular docking studies revealed that the sesquiterpenes α -bulnesene, δ -cadinene and β -bourbonene present in the OCH have a high affinity for the GABA_A receptor with binding energies in the range of -10.0 to -9.2 kcal/mol. It primarily interacts with the receptors through hydrophobic force, highlighting the importance of the interaction with the Phe77 amino acid residue. With respect to NMDA, the best ligands were δ -cadinene, guaiane and α -bulnesene, with binding energies of -9.4 to -8.4 kcal/mol, higher than those obtained for ketamine (-7.4 kcal/mol). DFT analysis revealed that the most promising ligands have higher stability and moderate to strong electrophilicity. This research provides valuable insights for the identification of new molecules in the development of herbal medicines for the treatment of epilepsy, suggesting that the anticonvulsant effect of OCH may be related to the modulation of the GABA_A receptor or NMDA blockade.

Martins, Evandro Paulo ao-2025-04107h Assigned to Editor 12-May-2025 Externa Caixa de entrada



ACS Omega <onbehalf@manuscriptcentral.com>

para evandropaulo, mariaelanesda, angelicasoares, esdraslima, artur, ricardo, mim

seg., 12 de mai., 06:37 ☆ ☺ ↶ ⋮

To improve and transform your experience of publishing with ACS journals, we are currently developing the ACS Publishing Center. As a result, you may experience interactions and communications from different systems for some elements of the process during this transition. We aim to continue providing you with the best service and appreciate your patience as we work through these changes.

12-May-2025

Journal: ACS Omega

Manuscript ID: ao-2025-04107h

Title: "Anticonvulsant potential of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth: *In vivo* and *in silico* approach"

Author(s): da Cunha, Maria Elane ; Soares, Angélica ; Lima, Esdras; Filho, Francisco Artur ; Ramos, Ricardo; Marques, Rosemarie; Martins, Evandro Paulo

Manuscript Status: Associate Editor Assigned

Dear Dr. Martins:

Thank you for submitting your manuscript to ACS Omega, a multidisciplinary, open access journal for the publication of original and scientifically valid research. The journal offers expedited editorial decision-making and immediate open availability. Authors can rapidly publish their important research results and broadly distribute them to the global scientific community. Please note that there are publishing charges associated with this journal. Details can be found at <http://acsopencience.org>. Should your manuscript be accepted, you will be required to pay for the Article Publishing Charges prior to publication. Authors may qualify for discounts. Article Publishing Charges are waived for invited Editorials and Perspectives.

"Anticonvulsant potential of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth: *In vivo* and *in silico* approach" has been assigned to the following editor:

Prof. Christian Lorenz

Senior Editor

ACS Omega

Email: Lorenz-office@omega.acs.org