

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS – FISILOGIA ANIMAL COMPARADA

Efeitos comportamentais e genotóxicos em ratos Wistar sob efeito do extrato aquoso bruto de flores da *B.suaveolens* (Solanaceae).

Biól: Odila Eli Dickel

Dissertação defendida no âmbito do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas – Fisiologia Animal Comparada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE em Fisiologia Animal Comparada.

Orientador: Profa. Dra. Daniela Martí Barros
Co-Orientadora: Profa. Dra. Laura Alicia Geracitano

- Rio Grande-
- 2006-

"A grandeza não consiste em receber honras, mas em merecê-las".
(Aristóteles)

SUMÁRIO

Agradecimentos	4
Resumo	5
Introdução	6
Behavioral and genotoxic effects of <i>Brugmansia suaveolens</i> aqueous extract intake in rats.	12
Abstract	13
1. Introducion	14
2. Material and methods	15
3. Results	20
4. Discussion	22
Acknowledgements	25
References	26
Captions	31
Table 1	33
Table 2	34
Figure 1	35
Figure 2	36
Figure 3	37
Figure 4	38
Considerações finais	39
Referências	40

AGRADECIMENTOS

A DEUS, “Biólogo Maior”;

A meu pai e minha mãe (*in memoriam*) que tiveram a visão que o melhor e mais importante legado é o conhecimento.

Aos meus filhos e nora, que tiveram a paciência e respeito em entender minhas longas ausências nos momentos importantes de suas vidas.

Aos meus irmãos, cunhados (as), sobrinhos (as), pelo apoio.

Às famílias de: José Paulo Ferreira de Faria; Luís Silveira, Paulo Renato dos Santos e Luis César Ferreira, pelo carinho, incentivo além do apoio “logístico”.

À Rosiane, amiga incansável, dedicada, conselheira e colaboradora de todos os momentos cruciais;

À Michele, Fani, Gianni Cristina, Micheli, Lissandra e Cassiane, sempre atenciosas e com panheiras, pelas ajudas nas correções, amizade e por “em prestarem seus ouvidos” nos momentos de angústia;

Aos amigos Tiago, Francis, Euclides, Reno, Mateus e Rodrigo companheiros dos mates e músicas.

A todos os professores, colegas da graduação e pós-graduação do Departamento de Ciências Fisiológicas que sempre me socorreram de forma incansável, pela amizade, conselhos, dicas e incentivo para continuar.

A todos os colegas de laboratório, laboratoristas e bioteristas pela amizade, resmungos e auxílio nas tarefas.

À servidora Maria da Graça, sempre presente, com carinho, dedicação e presteza.

Às famílias que gentilmente cederam as flores, por acreditarem em meu trabalho.

Ao apoio financeiro do CNPq, FURG, ao PPG em Fisiologia Animal Comparada pela viabilização do trabalho e ao Laboratório do Prof^o. Dr. Paulo Abreu por viabilizar a leitura do teste cometa no microscópio de fluorescência.

À minha co-orientadora Prof^a Dr^a Laura Geracitano pela realização do ensaio cometa e LPO e ao prof. Dr José Monserrat pelas dicas sobre estresse oxidativo.

Por fim, e de maneira muito especial, à minha orientadora por ter me aceitado como orientada, acreditar em meu projeto, pelo seu empenho em conseguir auxílio financeiro, pelas “seguradas de barras”, suas dicas e amizade, sem estes parâmetros provavelmente este trabalho não teria tido continuidade. Obrigada por me ensinar a “trilhar” na pesquisa. Este trabalho é de todos! Obrigada.

RESUMO

Brugmansia suaveolens é uma planta dicotiledônea da família das solanáceas. Entre seus constituintes químicos apresentam alcalóides tropânicos, os quais podem produzir alucinações se ingeridos de forma abusiva. Dentre os alcalóides tropânicos, o mais abundante é a escopolamina que provoca alterações na memória, causando amnésia. Este trabalho avaliou alterações no tecido hipocampal após a ingestão do extrato aquoso de flores da *B. suaveolens* (AEB) durante 1 (agudo) e 21 dias (crônico), através do dano de DNA e lipoperoxidação (LPO) bem como, efeitos comportamentais provocadas pelo extrato, nas tarefas de esquiva inibitória (EI), campo aberto (CA), labirinto em cruz elevado (EPM), e labirinto aquático de Morris (LAM). Ratos tratados cronicamente (21 dias) com o AEB nas doses de 100 e 300 mg/kg apresentaram danos significativos em relação ao dano de DNA e LPO no tecido hipocampal. Na tarefa CA os animais tratados cronicamente com AEB na dose de 300 mg/kg, apresentaram um número menor de cruzamentos e uma diminuição no número de *rearings* (posição bípede) em relação ao grupo controle. No EPM os animais que receberam tratamento agudo e crônico do AEB apresentaram um decréscimo no número de entradas, no percentual de tempo de permanência nos braços abertos, bem como menor número total de entradas (aberto e fechado), comparados ao grupo controle. No LAM somente os animais que receberam tratamento crônico com AEB, apresentaram uma redução significativa no tempo de permanência no quadrante da plataforma no dia do teste. Os resultados obtidos sugerem que o AEB apresenta um efeito ansiogênico quando administrados de forma aguda e crônica, bem como proporciona um déficit no aprendizado espacial nos animais tratados durante 21 dias. Os correlatos bioquímicos sugerem que as alterações na memória espacial podem estar relacionadas ao dano nos neurônios hipocampais.

Palavras chaves: *B. suaveolens*; Memória; ratos Wistar; dano oxidativo; labirinto em cruz elevado, labirinto aquático de Morris.

1. INTRODUÇÃO

Brugmansia suaveolens G. Don (1838) (Humb. et Bonpl. ex Willd.) Bercht. & C. Presl. (Corrêa, 1984; Oliveira *et al.*, 1991), cuja sinonímia botânica é *Datura suaveolens* Willd. (Oliveira *et al.*, 2003), é uma planta dicotiledônea, geralmente arbustiva, pertencente à família das solanáceas. Suas flores são grandes, pendentes, de cálice tubular, corola com tubo infundibuliforme medindo entre 24 - 42 cm de comprimento e 15 cm de diâmetro (Corrêa, 1984). Dois exemplares desta planta estão depositados no Herbário da Fundação Universidade Federal do Rio Grande (HURG) sob número 3861.

Desde a Antigüidade civilizações utilizam plantas não somente em rituais sagrados, mas também com finalidades terapêuticas (De Feo, 2003; Nencini *et al.*, 2005). No Brasil, as plantas medicinais são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas (Veiga Júnior e Pinto 2005). Espécies do gênero *Brugmansia* também têm sido usadas com este propósito. Estas plantas são originárias da América do Sul e as mais conhecidas são: *B.suaveolens*, *B.candida*, *B.sanguinea* e *B. arborea*. (Griffin e Lin, 2000; Schenkel *et al.*, 2001; Bacchi, 2003; Oliveira *et al.*, 2003).

Estudos recentes comprovaram, em espécies deste gênero, a presença de alcalóides tropânicos como a escopolamina, atropina e hiosciamina (Schenkel *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2003; Alves, 2003). Na *B. suaveolens*, esses alcalóides foram isolados por extração ácido-base e quantificados por cromatografia gasosa (Alves, 2003). Além de possuírem propriedades alucinógenas (Nencini *et al.*, 2005), há fortes indícios que as plantas os utilizam contra a herbivoria (Alves, 2003; Hare e Walling, 2006). Ainda hoje, alcalóides são largamente utilizados pela indústria farmacêutica, tanto na forma natural como sintética (Correia, 2005).

O gênero *Brugmansia*, conhecido popularmente como “trombeteira”, “cartucheira” entre outros, é comumente encontrada em locais úmidos, com muito material orgânico. Devido a sua fácil adaptação ao ambiente e pela exuberância de suas flores esta planta é cultivada como ornamental. Segundo a cultura popular, há relatos do uso de flores ingeridos na forma de chás com fins medicinais, mas também, com propósitos psicoativos (chá do cartucho), atraindo o interesse de jovens e adultos para seu uso (Oliveira *et al.*, 2003).

Estão bem descritas na literatura intoxicações acidentais ocorridas através da ingestão de folhas, flores e /ou frutos em brincadeiras de crianças, ou pelo contato da seiva com os olhos, causando midríase, que pode ser confundida com desordem neurológica (Havelius e Asman, 2002; Oliveira *et al.*, 2003; Steenkamp *et al.*, 2004; De Frates, 2004; Al-Shaikh e Sablay, 2005; Raman e Jacob, 2005). A toxicidade provém da ação anticolinérgica dos alcalóides, que competem antagonicamente com a acetilcolina nos receptores muscarínicos, inibindo a ação da mesma em efeitores autônomos e na musculatura lisa. Além disso, reduz as secreções das mucosas e provoca bloqueio dos efeitos do nervo vago no coração, aumentando a frequência cardíaca (Gilman *et al.*, 1980; Oliveira *et al.*, 2003).

As conseqüências da ingestão de doses altas de alcalóides tropânicos são os efeitos simultâneos de estimulação do sistema nervoso central (SNC) e depressão dos nervos periféricos, causando desorientação, alucinações e pânico. As alucinações mais freqüentes são principalmente visuais. Em casos mais graves, após este período, o indivíduo apresenta depressão neurológica, distúrbios cardiovasculares e respiratórios, podendo ocorrer óbito (Schvartsman, 1979; Scavone e Panizza, 1980; Norton, 1996; Oliveira *et al.*, 2003).

1.1 Química dos alcalóides tropânicos

Alcalóides tropânicos apresentam em comum a estrutura bicíclica, denominada tropano 8-metil-8 azabicyclo [3, 2,1] (Alves, 2003). A esterificação do grupo hidroxila com ácidos aromáticos dá origem aos alcalóides tropânicos de maior importância na medicina (Fig. 1) – escopolamina, hiosciamina e atropina (Mann, 1987; Alves, 2003), destacando-se seu uso no tratamento de espasmos, cólicas, envenenamento com organofosforados e como anestésicos (Bacchi, 2003; Alves, 2003).

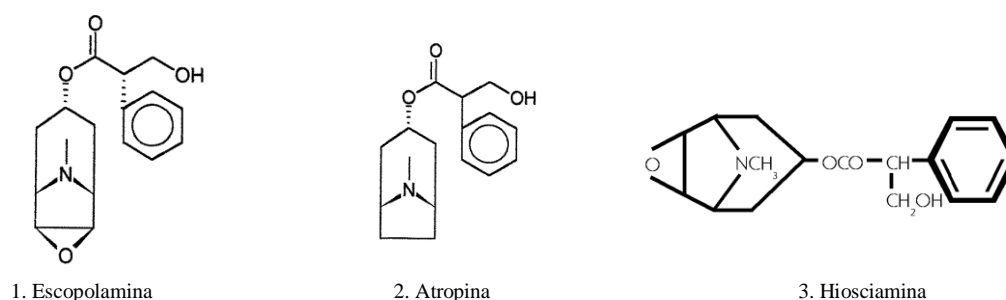


Figura 1. Alcalóides tropânicos mais abundantes na *B.suaveolens*, (Alves, 2003).

1.2 Aspectos farmacológicos dos alcalóides tropânicos

Em geral, os alcalóides tropânicos são anticolinérgicos. A escopolamina pode cruzar a barreira hemato-encefálica e, em altas doses, tem ação no SNC, causando principalmente alucinações (Gilman *et al.*, 1980). A hiosciamina inicialmente bloqueia receptores muscarínicos colinérgicos do sistema nervoso parassimpático (SNP), produzindo efeitos inibitórios sobre as glândulas exócrinas e efeitos diversos sobre as musculaturas lisas e cardíacas (Norton, 1996). A atropina age como depressora do córtex cerebral e bulbo após excitação central, periféricamente age nas terminações nervosas pós-ganglionares colinérgicas (Sinnott *et al.*, 1995, Oliveira *et al.*, 2003).

1.3 Receptores Muscarínicos

Existem dois tipos de receptores colinérgicos: os muscarínicos e os nicotínicos. Os receptores muscarínicos são metabotrópicos e pertence à família de receptores acoplados a proteína “G” (Rang *et al.*, 2004). Estes receptores inibem ou ativam a ligação da acetilcolina (ACh) ao receptor e, a atropina e hiosciamina atuam como antagonistas da ativação da ACh (Correia,2005).

A ACh é um neurotransmissor do SNP que transmite mensagens dos nervos para os músculos (Correia, 2005). É biossintetizada a partir da acetil-coenzima A (acetil-CoA) e colina por ação da enzima colina acetiltransferase (Fig. 2). Este neurotransmissor é encontrado no cérebro e nas junções neuromusculares. Seus efeitos incluem a contração dos músculos lisos, dilatação dos vasos sanguíneos e regulação da taxa de batimentos cardíacos; no cérebro está envolvido nas sinapses associadas ao controle motor, memória e cognição (Veiga Junior *et al.*, 2004).

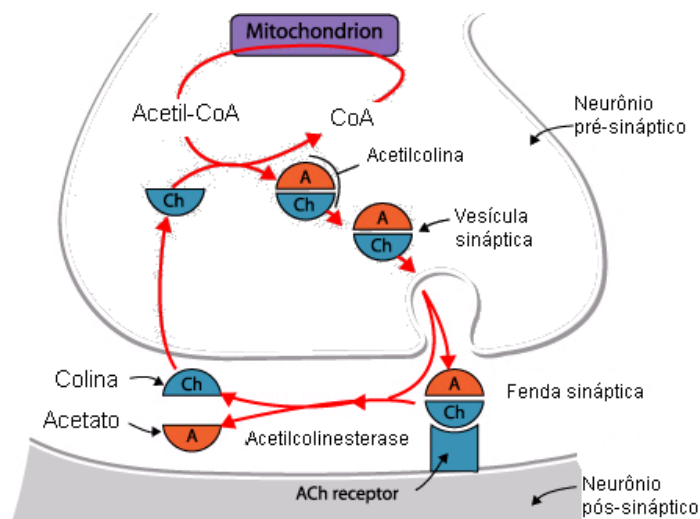


Figura 2. Biossíntese da acetilcolina a partir da colina e acetil-CoA. Fonte: <http://www.frca.co.uk/images/acetylcholine.jpg>

A clonagem gênica revelou a existência de cinco subtipos de receptores muscarínicos: M₁, M₂, M₃, M₄ e M₅ encontrados principalmente no SNC e periférico. Esses receptores atuam como mediadores de efeitos excitatórios e na atividade parassimpática pós-ganglionar (principalmente coração, musculatura lisa e glândulas). Os receptores M₁, M₃ e M₅ atuam através da via do fosfato inositol, enquanto os M₂ e M₄ atuam ao inibir a adenilatociclase (Rang *et al.*, 2004).

1.4 Memória e Sistema Colinérgico

O sistema colinérgico tem importante papel nos processos de formação da memória e há evidências que tanto em animais como em humanos, o aprendizado e memória podem ser modificados por drogas que afetam a função colinérgica central (Yamazaki *et al.*, 2005).

A memória é uma função do sistema nervoso e compreende três processos distintos: aquisição, consolidação e evocação. As principais estruturas envolvidas nos processos de memória são: hipocampo, córtex entorrinal, córtex parietal, córtex cingulado, amígdala, estriado e cerebelo (Izquierdo, 2002). Durante os primeiros minutos ou horas após sua aquisição, elas são suscetíveis à interferência de outras memórias (McGaugh, 1966; Izquierdo, 1989; Izquierdo e McGaugh, 2000; Izquierdo, 2002). A aquisição também é denominada aprendizado. A consolidação depende de uma série de processos metabólicos no hipocampo e outras estruturas cerebrais, compreendendo diversas fases e requerem de três a oito horas para serem consolidadas (Izquierdo, 2002). A evocação é fortemente modulada em todas as estruturas corticais pelas vias dopaminérgica, noradrenérgicas, serotoninérgicas e colinérgica (Barros *et al.*, 2001). Em geral os hormônios do estresse melhoram a evocação, à exceção dos glucocorticóides, que a inibem até mesmo em doses baixas (Izquierdo, 2002).

Do ponto de vista de sua duração, as memórias podem ser: memória de trabalho ou memória operacional que é a interface entre a percepção da realidade pelos sentidos e a formação ou evocação das memórias. A memória de trabalho depende da transmissão glutamatérgica no córtex pré-frontal e colinérgica na amígdala. Muitos reconhecem a memória de trabalho como o grande sistema “gerenciador” de informações do cérebro já que ela, literalmente, decide que memória vai formar ou evocar, se memória de curta (STM - horas) ou longa duração (LTM - dia, décadas) (Izquierdo, 2002). Quanto ao conteúdo, as memórias classificam-se em: memórias declarativas e memórias de

procedimentos. As primeiras subdividem-se em: memórias semânticas (conhecimentos, ex. idioma) ou episódicas (fatos). As memórias de procedimento são em geral adquiridas de maneira implícita, sem que o indivíduo perceba de forma clara que as está aprendendo. Ambas as memórias formam traços de STM e LTM (Squire e Kandel, 1999; Izquierdo, 2002).

1.5 Estresse oxidativo e memória

Os diferentes tipos de memória são formados ou armazenados em várias regiões do cérebro e dependem da integridade das conexões sinápticas. Deste modo, é importante ressaltar que a perda de neurônios não é a principal mudança que ocorre no cérebro com o passar do tempo, e sim, a perda de conexões sinápticas no hipocampo e as modificações na capacidade de gerar e manter potenciais de longa duração (LTP) (Squire e Kandel, 1999). A memória pode ser modulada, nas diferentes fases do seu processamento, por diversas substâncias sendo que muitas delas, como os alcalóides tropânicos, são capazes de interferir nos processos oxidativos neuronais. Alterações nesses processos podem levar a um desequilíbrio entre a produção de pró-oxidantes e antioxidantes, estabelecendo uma situação de estresse oxidativo (Hermes-Lima *et al.*, 1995).

Esse desequilíbrio pode ser gerado por espécies reativas de oxigênio (ERO), algumas das quais podem ser radicais livres como o ânion superóxido (O_2^-) e o radical hidroxila (OH). Outras podem não ser radicais livres, mas também são chamadas ERO, como é o caso do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Fridovich, 1978; Meneghini, 1987; Storey, 1996; Ferreira e Matsubara, 1997; Halliwell e Gutteridge, 1999). Segundo Ferreira e Matsubara (1997), as ERO podem ser causa ou consequência de doenças humanas associadas ao estresse oxidativo.

O radical OH é frequentemente reconhecido como a espécie iniciadora e a mais importante da peroxidação lipídica (Ferreira e Matsubara, 1997) dos ácidos graxos insaturados da membrana celular (Meneghini, 1987). Pode danificar membranas ou partes internas das células, modificarem proteínas de longa vida, como o colágeno e elastina ou provocar alterações graves nos ácidos nucleicos. Nas proteínas, altera a estrutura terciária provocando perda da função, fragmentação e ligações cruzadas; e no DNA, os radicais livres induzem modificações que, na maioria das vezes, são corrigidas pelo mecanismo de reparo. Quando esses mecanismos não são suficientes ocorrem

alterações no DNA, levando a mutação (Meneghini, 1987; Halliwell e Gutteridge, 1999). Essas modificações são conhecidas como genotoxicidade.

El-Sherbiny *et al.* (2003), mencionam em seu trabalho que doses agudas de escopolamina (alcalóide tropânico) elevam o dano oxidativo, alterando os níveis de malondialdeído (MDA) e glutatona (GSH) em cérebro de ratos causando, assim, prejuízo na memória.

Este estudo teve por objetivo geral avaliar aprendizado e memória, LPO e dano de DNA em hipocampo de ratos machos jovens, da espécie *Rattus norvegicus*, variedade *Wistar* (Berkenhout, 1769) (Rodentia: Mammalia) provocados pela ingestão do AEB de flores da *B. suaveolens* administrados de forma aguda (1 dia) e crônica (21 dias). No estudo do comportamento e memória, foram realizadas tarefas comportamentais descritos na literatura, como Esquiva Inibitória (EI) (Izquierdo *et al.* 1989), que avalia o aprendizado condicionado; Campo Aberto (CA) (Barros *et al.* 2000) para avaliar a atividade locomotora e exploratória; Labirinto em Cruz Elevado (EPM) (Pellow *et al.* 1985) que avalia o potencial pró ou anticonflito; e Labirinto /aquático de Morris (LAM) (MORRIS *et al.* 1982), que avalia aprendizado espacial. O artigo resultante desta pesquisa " Behavioral and genotoxic effects of *Brugmansia suaveolens* aqueous extract intake in rats." será submetido à revista *Pharmacology and Biochemistry Behavior*.

Behavioral and genotoxic effects of *Brugmansia suaveolens* aqueous extract intake in rats.

Odila Eli Dickel^{a,b}, Rosiane Borba de Aguiar^{a,b}, Fani Mattone^{a,b}, Laura Geracitano^{a,b},
José Maria Monserrat^{a,b}, Daniela Barros^{a,b,*}

^a Departamento de Ciências Fisiológicas, Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS, BRAZIL.

^b Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, Fisiologia Animal Comparada (FURG).

*Corresponding author:

Prof. Dr. Daniela Martí Barros

Fundação Universidade Federal do Rio Grande

Departamento de Ciências Fisiológicas

Av. Itália, km 8, s/n

Cx. Postal 474

CEP 96201-900 Rio Grande – RS – Brazil

Phone/Fax: +55 53 32336847 / +55 53 32336850

E-mail address: barrosdm@yahoo.com.br

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os resultados obtidos nesta pesquisa é possível concluir que, os animais tratados com AEB de flores da *B. suaveolens* diminuíram a atividade locomotora; apresentaram efeito ansiogênico e alterações no aprendizado espacial quando tratados de forma crônica (21 dias). Os correlatos bioquímicos sugerem que as alterações na memória espacial possam estar relacionadas ao dano em neurônios hipocampais possivelmente ocasionados pela ingestão do referido extrato.

Embasado por nossos resultados, é necessário ressaltar a importância de estudos científicos sobre fitoterápicos seus efeitos colaterais, especialmente sobre aqueles que tenham propósitos medicinais. Deste modo, intoxicações graves e ou letais podem ser evitadas, uma vez que o uso dos mesmos está cada vez mais inserido no cotidiano da sociedade, ainda que esses produtos nem sempre se mostrem totalmente seguros.

REFERÊNCIAS

- AL-SHAIKH, A.M.; SABLAY, Z.M.; 2000. Hallucinogenic plant poisoning in children. *Saudi Med J.* 26 (1): 118-21.
- ALVES, M.N. 2003. Alocação de alcalóides tropânicos em *Brugmansia suaveolens* (Solanaceae). Tese apresentada ao Instituto de Biologia para a obtenção do título de doutor em Biologia Vegetal. Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP.
- BACCHI, E.M.; 2003. Alcalóides tropânicos. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/ UFRGS / Ed. UFSC. 5th ed. pp 793-817.
- BARROS, D.M.; IZQUIERDO, L.A.; MELLO e SOUZA, T.; ARDENGHI, P.; PEREIRA, P.; MEDINA, J.H.; IZQUIERDO, I.; 2000. Molecular signaling pathways in the cerebral cortex are required for retrieval of one-trial avoidance learning in rats. *Behav. Brain Res.* 114, 183-192.
- BARROS, D. M.; SOUZA e MELLO, T.; de DAVID, T.; CHOI, H.; AGUZZOLLI, A.; MADCHE, C.; ARDENGHI, P.; MEDINA, J.H. and IZQUIERDO, I.; 2001. Simultaneous Modulation of retrieval by dopaminergic D₁, noradrenergic, serotonergic-1A and muscarinic receptors in cortical structures of the rat. *Behav. Brain Res.* 124: 1-7.
- BARROS, D.M.; CARLIS, V.; MAIDANA, M.; SINNOTT SILVA, E.; BAISCH, A.L. M.; RAMIREZ, M.R.; IZQUIERDO, I., 2004. Interactions between anandamide-induced anterograde amnesia and post-training memory modulatory systems. *Brain Res.* 1016: 66 – 71.
- BIANCHIN, M.; MELLO E SOUZA, T.; MEDINA, J.H.; IZQUIERDO, I.; 1999 The amygdala is involved in the modulation of long-term memory but not working or short-term memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* 72: 525-528.
- CORREA, M.P.; 1984. Vol. VI – Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Ministério da Agricultura Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. p. 288.
- CORREIA, A.; 2005. Atropina e hiosciamina - suas aplicações biológicas. Documentação e informação. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa.
- De FEO, V.; 2003. Ethnomedical field study in northern Peruvian Andes with particular reference to divination practices. *J. Ethnopharmacol.* 85: 243–256

De FRATES, L.J.; HOEHNS, J.D.; SAKORNBUT, E.L.; GLASCOCK, D.G.; TEW, A.R.; 2004. Antimuscarinic intoxication resulting from the ingestion of moonflower seeds. Vol. 39, No. 1, pp. 173-176. Harvey Whitney Books Company. *College of Pharmacy*, University of Iowa, Iowa City, IA, USA.

EL-SHERBINY, D.A.; KHALIFA, A.E.; ATTIA, A.S.; ELDENSHARY, E.EL-D.S.; 2000. *Hypericum perforatum* extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 76: 525-533.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S.; 1997. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil* 43 (1): 61-8.

FRIDOVICH, I.; 1978. The biology of oxygen radicals. *Science* 201: 875-880.

GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; GILMAN, A.; 1980. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 8^a Ed. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro.

GRIFFIN, W.J.; LIN, G.D.; 2000. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. *Phytochem.* 53:623-637.

HALLIWELL, B. e GUTTERIDGE, J.M.C.; 1999. Free radicals in biology and medicine. Editora Oxford University Press. p. 936.

HARE, J.D, and WALLING, L.L.; 2006. Constitutive and jasmonate-inducible traits of *Datura wrightii*. *J. Chem. Ecol.* 32 (1): 29-47.

HAVELLIUS, U., ASMAN, P.; 2002. Accidental mydriasis from exposure to Angel's trumpet (*Datura suaveolens*). *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 80: 332-335.

HERMES- LIMA, M., WILLMORE, W.G. e STOREY, K.B.; 1995. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe (II) xylenol orange complex formation. *Free Radical Biol. & Med*, 19: 271-280.

IZQUIERDO, I.; BARROS, D.M.; MELLO E SOUZA, T.; DE SOUZA, M.M.; IZQUIERDO, L.A. e MEDINA, J.H., (1998a). Separate but linked mechanisms for short- and long-term memory in the rat. *Nature* 393, 635-636.

IZQUIERDO, I.; 1989. Different forms of posttraining memory processing. *Behav. Neural Biol.* 51, 171-202.

IZQUIERDO, I. e MEDINA, J. H.; 1995. Correlation between the pharmacology of long-term potentiation and the pharmacology of memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* 63: 19-32.

- IZQUIERDO, I. e MEDINA, J.H.; 1997. Memory formation: The sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiol. Learn. Mem.* 68: 285 –316.
- IZQUIERDO, I., McGAUGH, J.L.; 2000. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behav Pharmacol.* 11 (7-8): 517-34.
- IZQUIERDO, I.; 2002. *Memória*. Editora Artmed S.A., Porto Alegre.
- MANN, J.;1987. *Secondary metabolism*. Claredon Press, Oxford
- MENEGHINI, R.A.; 1987. Toxicidade do Oxigênio, *Ciência Hoje* 5 (28): 56-62. SBPC. São Paulo.
- McGAUGH, J.L.; 1966. Time-dependent processes in memory storage. *Science* 153 (742):1351-8.
- MORRIS, R.G.; GARRUD, P.; RAWLINS, J.N.; O'KEEFE, J.; 1982. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions *Nature* 297: 681-683.
- NENCINI, C.; CAVALLO, F.; BRUNI, G.; CAPASSO, A.; DE FEO, V.; DE MARTINO, L.; GIORGI, G.; MICHELI, L.; 2005. Affinity of *Iresine herbstii* and *Brugmansia arborea* extracts on different cerebral receptors. *J. Ethnopharmacol.* 105: 352–357.
- NORTON, S. (1996). Toxic effects of plants. In: AMDUR, M.O.; DOULL, J.; KLAASSEN, C.D. (eds). *Casarett and Doull's Toxicology: the basic science of poisons*. 5th ed. McGraw Hill, New York.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K.; 1991. *Farmacognosia*. Livraria Atheneu Editora, S.Paulo; Rio Janeiro, p.95.
- OLIVEIRA, R.B.de; PIRES de GODOY, S.A.; COSTA, F.B.; 2003. In: *Plantas tóxicas*. Conhecimento e prevenção de acidentes. Ed. Holos, p. 34-37.
- PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S.; BRILEY, M.; 1985. Validation of open: closed arms entries in an elevated plus- maze as a measure of anxiety in the rats. *Journal of Neurosc. Meth.* 14: 149-67.
- RAMAN, S.V., JACOB, J.; 2005. Mydriasis due to *Datura inoxia*. Royal Devon and Exeter Hospital Foundation Trust, Wonford, Exeter, UK. *Emerg Med J*; 22(4): 310-311.
- RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; 2004. *Farmacologia* Ed Guanabara Koogan 4ª Edição, p. 411 e p 94 - 115.
- SCHVARTSMAN, S.; 1979. *Plantas venenosas*. Sarvier, São Paulo.
- SCAVONE, O. e PANIZZA, S.; 1980. *Plantas tóxicas*. CODAC- USP, São Paulo.

SCHENKEL, E.P.; ZANINNIN, M.; MENTZ, L.A.; BORDIGNON, S.A.L.; IRGANG, B.; 2001. *Plantas Tóxicas*. In: SIMÕES C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A. e PETROVICK, P.R.; (eds) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3ª. Ed., Universidade/UFRGS.

SINNOTT, E. S.; ABREU, S.M.; ARGOUD, J.J.B.; SILVEIRA, S.N.; SILVA, F.A.; ALMEIDA, T.L.; 1995. Alterações comportamentais em ratos administrados com preparações da *Datura suaveolens*. *Vitalle* 7: 33-47.

SQUIRE, L.R. e KANDEL, E.R.; 1999. *Memory: from mind to molecules*. Scientific American Library, New York, USA. p 235.

STEENKAMP, P.A.; HARDING, N.M.; HEERDEN, F.R. van; WYK, B.-E. van. 2004. Fatal *Datura* poisoning: identification of atropine and scopolamine by high performance liquid chromatography/photodiode array/mass spectrometry. *Foren. Sci. Internat.* 145: 31-39.

STOREY, K.B.; 1996. Oxidative stress: animal adaptations in nature. Institute of Biochemistry and Department of Biology, Carleton University, Ottawa, Ontario, Canada K1S 5B6. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 29:1715-1733.

TREVISAN, M.T.S. e MACEDO, F.V.V.; 2003. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. *Quím. Nova.* 26 (3): 301-304.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V.da S., FURLAN, M.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J.; 2004. Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento do Mal de Alzheimer. *Quím. Nova* 27(4): 655-660.

VEIGA JUNIOR, V. F. e PINTO, A. C.; 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Quím. Nova* 28 (3): 519-528.

YAMAZAKI, T.; YAGUCHI, M.; NAKAJIMA, Y.; HOSONO, T.; NIIHO, Y.; HIBI, Y.; KINJO, J.; NOHARA, T.; 2005. Effects of an aqueous extract of *Puerariae flos* (*Thomsonide*) on impairment of passive avoidance behavior in mice. *J. Ethnopharmacol.* 100: 244-248.