



but that of *B. neuwiedi* was most potent and very similar to *C. d. terrificus* venom. Purification of the crotoxin-like protein from the venom of *B. jararacussu* was achieved by affinity chromatography using anticrotoxin antibodies coupled to a CNBr-activated Sepharose 4B column. The yield of component by this approach was <4%. Immunoblotting of the component under non-reducing and reducing conditions in SDS-PAGE showed that the protein had a MW of approx. 100,000 and 30,000 (the MW of crotoxin), respectively. When tested by ELISA, the component demonstrated a similar but lower reactivity to that seen with crotoxin and the venom of *C. d. terrificus* venom.

Conclusions: *Bothrops* venoms generally contain very low levels of proteins immunologically related to crotoxin. This was confirmed by the low yield of the component purified from *B. jararacussu* venom. Whether this protein has similar enzymatic and pharmacological activities to crotoxin is currently under investigation. The clinical importance of this component also remains to be established.

Financial support: FAPESP, FAEP

10.101

PURIFICAÇÃO DE UM FATOR BLOQUEADOR NEUROMUSCULAR DO EXSUDATO DO VENENO DO *Bufo paracnemis*. Patrocínio, M.C.A.**; Costa, D.C.*; Pinheiro, F.G.A.*; França, M.S.F., Carvalho, K.M., Departamento de Fisiologia e Farmacologia, CCS-UFV

Objetivos: A pele dos anfíbios produz uma grande diversidade de substâncias, tais como aminas biogênicas, toxinas, peptídeos e enzimas (Carvalho, K.M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA 89:84-88, 1992), que suscitam vários efeitos farmacológicos. Tem sido relatado que existem diversos efeitos na secreção das glândulas paratóides do *Bufo paracnemis*, dentre eles: atividade convulsivante, curarizante, etc. O objetivo desse trabalho foi isolar e caracterizar um fator com efeito bloqueador neuromuscular presente no veneno do animal.

Métodos e Resultados: O veneno extraído por compressão das glândulas paratóides do *Bufo paracnemis* foi dissolvido em etanol na proporção 1:20 (p/v) e deixado em repouso a 4°C por 12 horas. Esse material foi concentrado na estufa a 110°C por 15 minutos, e posteriormente centrifugado em 5000 rpm durante 5 minutos. O sobrenadante foi submetido a cromatografia em SEPHADEX LH-20. As frações obtidas, com atividades biológicas, foram então submetidas a cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Foi evidenciado um pico com atividade curarizante após injeção em camundongos adultos, pois houve um quadro de paralisia motora flácida progressiva, que regrediu em alguns animais e, em outros, evoluiu para apnéia e morte. Quando levado a teste "in vitro" na preparação frênico-diafragma de ratos, submetido a um estimulador com 0.4Hz, 0.5ms e 6V, verificou-se uma diminuição dose dependente da resposta excitação neuromuscular.

Conclusão: Um fator do veneno do *Bufo paracnemis* foi purificado, que apresentou atividade "in vitro" bloqueadora na junção neuromuscular e "in vivo" paralisia motora flácida progressiva. A função fisiológica dessa substância é objeto de especulação, mas parece ser um mecanismo de defesa do anfíbio contra predadores.

Apoio financeiro: CNPq, FINEP, CAPES e FUNCAP

10.102

***Croton zehntneri*: ALTERAÇÕES DE EMOCIONALIDADE EM RATOS APÓS ADMINISTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL.**

Lazarini, C.A.¹; Brandão, G.M.S.¹; Mathias, D.S.S.¹; Uema, A.H.¹; Bernardi, M.M.² ¹Departamento de Ciências Fisiológicas, Faculdade de Medicina de Marília; ²Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - USP - SP.

Objetivos: A *Croton zehntneri* (Cz) tem sido

amplamente utilizada em medicina popular na região nordeste do país para o tratamento de distúrbios nervosos, tais como: ansiedade, depressão, convulsões, entre outros. O presente trabalho estudou os efeitos da administração do óleo essencial da Cz sobre modelos de emocionalidade em ratos.

Métodos e Resultados: Ratos machos foram divididos em grupos (n=8) e tratados com 1,0; 3,0 e 10,0 µl/100mg de peso corporal do óleo essencial da Cz, v.o., 1:00 h antes de serem testados. Aos 60 dias foram testados no modelo de natação inescapável e, 15 min. após, quanto a atividade geral no campo aberto. Aos 80 dias de vida foram submetidos aos modelos de interação social, labirinto em cruz-elevado e "holeboard". Os resultados mostraram aumento no tempo total de imobilidade no teste de natação inescapável nos grupos de 1,0 e 3,0 µl/100mg, em relação ao controle (C = 89.8±13.8; 1,0 µl = 153.0±14.7; 3,0 µl = 157.3±13.7). No campo aberto foi observado diminuição na locomoção total dos ratos dos grupos 3,0 e 10,0 µl/100mg, em relação ao controle (C = 62.2±6.7; 3,0 µl = 38.0±4.0; 10,0 µl = 39.2±6.7). Nos modelos estudados em animais de 80 dias, nenhuma alteração foi observada em relação ao grupo controle.

Conclusão: A administração do óleo essencial da Cz, em ratos machos, de 60 dias de vida mostrou que o mesmo alterou a emocionalidade dos animais sugerindo aumento de ansiedade, mostrado pelo teste de natação inescapável. A diminuição de locomoção observada no campo aberto corrobora este fato. Os resultados mostram também que este mesmo óleo não interfere com a emocionalidade dos animais na idade adulta, com 80 dias de vida.

10.103

EFEITOS DE EXTRATOS DA ESPÉCIE *Davilla rugosa* Poirlet NO COMPORTAMENTO DE RATOS. Konno, A.C.*; Chagas, D.A.*; Richtzenhain, M.H.V., Matheucci, L.G., Nasello, A.G. Depto. Ciências Fisiol., Fac. Med. Santa Casa de São Paulo.

Objetivos: *Davilla rugosa* Poirlet (Cipó-Caboclo) é amplamente utilizada na medicina popular. Muitos dos efeitos descritos carecem de fundamentos farmacológicos. Devido a seu uso como estimulante do SNC, foi de nosso interesse verificar seus efeitos em alguns comportamentos, tais como atividade geral (AG), observada num campo aberto (CA) e a ansiedade determinada num labirinto em cruz elevado (LCE).

Métodos e Resultados: Ratos machos foram tratados "per os" com o extrato hidroalcoólico a 70% dos caules da planta (EH), liofilizado e ressuspenso em água. Os ratos foram observados durante 5 min no CA (15, 30 e 60 mg/kg) ou no LCE (15 e 30 mg/kg), 30 min após o tratamento. No CA registramos frequência de locomoção total (LT), de locomoção no centro (LC), de levantar (LE), tempo de parada (TP) e defecação (D). A LT foi medida a cada min. Observamos que o EH, na dose de 30 mg/kg diminuiu a LT e LC e não modificou LE, TP e D. O efeito na LT foi mais evidente no 1º min. Comparadas com a dose de 30 mg/kg, a de 15 mg/kg aumentou LT, LC e a de 60 mg/kg não diferiu em nenhum parâmetro. No LCE quantificamos: entradas no braço aberto (EBA), total de entradas (TE), porcentagem de EBA, tempo de permanência no braço aberto (TBA), porcentagem de TBA, idas ao fundo do braço aberto (FBA), total de idas aos fundos (TF). Todos estes parâmetros foram aumentados com a dose de 15 mg/kg embora alguns deles, no limite da significância. 30 mg/kg não teve nenhum efeito.

Conclusões: Os resultados indicam que o EH da *Davilla rugosa* Poirlet modifica a AG e a ansiedade. Os efeitos são dose dependentes, sugerindo que a dose de 15 mg/kg aumenta a AG e diminui a ansiedade. 30mg/kg tem um efeito depressor e essa dose parece ter o efeito máximo.

Apoio: CNPq.

10.104

COMPARATIVE BEHAVIORAL STUDIES ON CROTOXIN AND IRRADIATED CROTOXIN.

Moreira, E.G.**; Nascimento, N.²; Rosa, G.J.M.¹; Rogero, J.R. & Vassilief, V.S.¹ ¹Departamento de Farmacologia e ²Departamento de Bioestatística, IB, UNESP, Botucatu, São Paulo, ³Supervisão de Radiobiologia, IPEN/CNEN, São Paulo, São Paulo.

Objectives: Crotoxin (CTX) has been detoxicated with gamma radiation in order to improve the crotalic antiserum production. Nevertheless, the present knowledge on the biological characteristics of irradiated crotoxin (ICTX) is insufficient to propose it as an immunizing agent. It is already known that CTX increases the emotional state of rats and decreases their exploratory behavior (Moreira, E.G et al., Brazilian J Med Biol Res, 1996, in press). In this way, the objectives were: 1. evaluate CTX effects in the social interaction test to establish if the increased emotional state is due to an anxiogenic activity of this compound; 2. investigate if ICTX induces behavioral alterations in the open-field (OF), hole-board (HB) and social interaction (SI) tests, similarly to CTX.

Methods and Results: Male Wistar rats weighing 180-220 g and housed under 12 h light-dark cycle were used. CTX (100, 250, 500 µg/kg) was injected intraperitoneally 2 h before the SI test. Similarly, ICTX (gamma radiation provenient from ⁶⁰Co source) was administered in the doses of 100, 250, 500 µg/kg for the HB test, and also in the doses of 1000 and 2500 µg/kg for the OF and SI tests. In OF, ambulation and rearing (frequency) and grooming and freezing (sec) were measured for 3 min. In HB, head-dip (frequency) and head-dipping (sec) were measured for 5 min. In SI, social interaction time (sec) was measured for 5 min. CTX decreased social interaction time in the doses of 100, 250 and 500 µg/kg (means±SEM: from 51.6±4.4 to 32.6±3.7, 28.0±3.6 and 31.55±4.4) whereas ICTX did not induce behavioral alterations. The statistical analysis was ANOVA complemented with Dunnett's test, P<0.05.

Conclusions: 1. The crotoxin-increased emotional state is due to an anxiogenic activity of this compound. 2. Differently from crotoxin, the irradiated crotoxin was unable to induce any behavioral alterations, which makes it valuable for crotalic antiserum production.

Financial support: FAPESP.

10.105

HEXANIC FRACTION OBTAINED FROM *Rubus brasiliensis* INCREASES THE EXPLORATORY BEHAVIOR OF RATOS. Nogueira, E.¹; Rosa, G.J.M.² and Vassilief, V.S.¹ ¹Departamento de Farmacologia, ²Departamento de Bioestatística, Instituto de Biociências - UNESP, Botucatu, SP.

Objective: The hexanic fraction obtained from a leaf ethanolic extract of *Rubus brasiliensis*, M., Rosaceae, presented a higher anxiolytic effect than diazepam, which was blocked by flumazenil (Abstract 2.124, FESBE, 1995). Thus, the objective of this research was to investigate if this hexanic fraction induces other behavioral effects, similarly to diazepam, on the general activity, exploration, learning and memory and barbituric hypnosis.

Methods and Results: It was used 160 adult male Wistar rats that were housed under 12 h light-dark cycle. They were treated with hexanic fraction in the doses of 50, 100 and 150 mg/kg, or soya oil (vehicle), v.o, 30 min before the behavioral evaluations in the tests: open field, holeboard, elevated plus maze and barbituric hypnosis. The ANOVA for one way classification was used, subsequently post-hoc test were performed using the Dunnett's test (P<0.05). The data, that were statistically significant, are shown in the table as mean (SEM).

Vehicle	Open-field		Holeboard	
	Ambulation	Rearing	Head-dip	Head-dipping
	62.60 (3.44)	25.75 (2.42)	7.21 (0.75)	8.52 (1.11)
Hexanic fraction (150 mg/kg)	83.38 (5.69)	52.08 (3.21)	19.79 (2.12)	28.25 (2.20)

4683

Sábado