

Avaliação neurofarmacológica de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L.R. Landrum – Myrtaceae em Camundongo

James Oluwagbamigbe FAJEMIROYE¹, José Luís Rodrigues MARTINS¹, Adriane Ferreira BRITO¹, Pablinny Morreira GALDINO¹, José Realino de PAULA², Joelma Abadia Marciano de PAULA³ Elson Alves COSTA¹

¹ LFPN, ICB, UFG; ² LPPN, Faculdade de Farmácia, UFG, ³ Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, Goiás, Brasil,

olulolo@yahoo.com

xico@icb.ufg.br

Introdução

Pimenta pseudocaryophyllus (Gomes) L.R. Landrum, conhecida popularmente como pau craveiro, pertence à família Myrtaceae a qual é uma das mais importantes da flora Brasileira, com 23 gêneros e aproximadamente 1000 espécies. Dados da organização mundial da saúde mostram que vegetais são amplamente utilizadas na forma de preparações caseiras e como matéria-prima de indústria farmacêutica tanto em países em desenvolvimentos quanto em países desenvolvidos. Nesse contexto, o Brasil é um país privilegiado devido a sua biodiversidade imensa. A variedade de espécies de plantas, animais e microrganismos existentes no ecossistema brasileiro, sem dúvida, apresenta um importante diferencial para o desenvolvimento de medicamentos (Kato, 2001).

No município de São Gonçalo do Abaeté - MG as folhas de *Pimenta pseudocaryophyllus* são utilizadas no preparo de chás para estados gripais e no município de Campos do Jordão - SP, são empregadas no preparo de chás calmantes. Com base nas informações terapêuticas dos usos populares e os demais interesse na busca de recursos para terapias alternativas com menores efeitos colaterais.

O objetivo deste trabalho foi obter o extrato etanólico e avaliar suas atividades neurofarmacológicas buscando identificar as suas frações ativas em modelos comportamentais, e caracterizar o mecanismo de ação envolvido.

Palavras chaves: Ansiolítico, Planta medicinal, *Pimenta pseudocaryophyllus*, sistema serotoninérgico

Material e Métodos

Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas de *P. pseudocaryophyllus*.

Folhas de *P. pseudocaryophyllus* foram coletadas em São Gonçalo do Abaeté, MG. O material vegetal foi identificado pelo Prof. Carolyn Barnes Proença Elinore PhD, a exsiccata (N^o 27159) foi depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás - UFG. As folhas foram secas a 40 °C em estufa com ventilação forçada e trituradas. O extrato etanólico bruto foi obtido por maceração do material pulverizado em etanol 95% (v/v) na proporção 1:5 (p/v) em temperatura ambiente, seguido de filtração e concentração em evaporador rotativo a uma temperatura de 40°C. O extrato foi concentrado até a massa constante e denominado extrato bruto (*EB*). A fim de obter a fração aquosa (FAQ), fração acetato de etila (FAC), fração diclorometano (FD) e fração hexano (FH), 50,0 g de *EB* foi dissolvido em 250 mL de metanol / água (7:3). A solução obtida foi submetida a processo de partição seqüencial com os diferentes solventes em ordem crescente de polaridade de acordo com Ferri (1996).

Animais

Foram utilizados camundongos albinos Swiss, adulto macho, pesando entre 30-40 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Goiás, mantidos à 25,0 ± 1 °C, com ciclo claro-escuro de 12/12 h, recebendo ração e com livre acesso a água, sendo os protocolos aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa / UFG (número 104/08).

Teste farmacológico

Potenciação do sono induzido por pentobarbital sódico.

No modelo de sono induzido por Pentobarbital Sódico 50 mg/kg os animais foram tratados oralmente com veículo (Tween 80 à 2%, 10 mL/Kg) ou com *EB* na dose

de 1 g/Kg. Este teste foi posteriormente empregado na avaliação de grupos de animais tratados por via oral com FAQ (640 mg/kg), FAC(420 mg/kg) , FD (260 mg/kg) ou FH (160 mg/kg). A latência e a duração do sono foram registradas como descrito por Carlini et al.,(1986).

Teste da barra giratória.

Grupos de camundongos foram selecionados 24 horas antes dos testes durante a sessão de treinamento com base em sua capacidade de permanecer na barra giratória até 60 segundos foram testado na Rota rod (Dunham e Myla, 1957). Após uma hora dos tratamentos por via oral com Veículo 10 mL/Kg ou EB 1 g/Kg, FAQ (640 mg/kg), FAC (420 mg/kg), FD (260 mg/kg) ou FH (160 mg/kg), os camundongos foram colocados individualmente barra giratória.

Teste do campo aberto

Este teste é baseado na metodologia descrita por Sielgel (1946) e validado por Archer (1973), e permite uma avaliação da atividade estimulante, depressora ou ainda indicar ação tipo ansiolítica de um dado composto. Os camundongos foram tratados por via oral com Veículo 10 mL/Kg ou FAQ (640 mg/kg), FAC(420 mg/kg), FD (260 mg/kg) ou FH (160 mg/kg) e após uma hora observado no campo aberto por 5 min.

Teste do labirinto em cruz elevado (LCE).

O labirinto em cruz elevado, foi um modelo proposto em ratos por Pellow *et al.* (1985) e validado por Lister (1990) para camundongos. O número de entradas nos braços abertos e fechados bem como o tempo gasto nos braços abertos do LCE foi registrado. Subseqüentemente, as porcentagens de entradas e de tempo gasto nos braços abertos foram calculadas. Os camundongos foram tratados com Veículo 10 mL/Kg ou FAQ (640 mg/kg), FAC (420 mg/kg) , FD(260 mg/kg) ou FH(160 mg/kg) e após uma hora observado por 5 min.

Teste de Caixa claro escuro (CCE)

Este teste é baseada na aversão inata de roedores em áreas iluminado e sobre o comportamento exploratório espontâneo (Crawley e Goodwin, 1980). A

latência da primeira entrada na parte escura, o número de transições entre os compartimentos e o tempo total (segundos) gasto por animais na parte escura da caixa são considerados como os índices de ansiedade. Os camundongos foram tratados com Veículo 10 mL/Kg, FAQ (640 mg/kg), FAC (420 mg/kg), FD (260 mg/kg) ou FH (160 mg/kg) e após uma hora observado por 5 min.

Investigação da Via neural envolvido no efeito tipo ansiolítico da FD

Para investigar o envolvimento do sítio benzodiazepínico - receptor GABA e / ou receptores de serotonina 5-HT_{1A} no efeito ansiolítico da FD foi feito o pré-tratamento dos animais (30 min ip) com o antagonista benzodiazepínico flumazenil (2 mg/Kg) ou o NAN – 190 (0,5 mg/Kg), antagonista do receptor 5-HT_{1A}. Após 60 min. dos tratamentos orais com veículo (10 mL/kg) ou FD (250 mg / Kg), os grupos pre-tratados ou não com antagonistas, foram avaliados nos testes de LCE e CCE.

Resultados e discussão

O tratamento com *EB* (1g/kg) causou uma diminuição na latência e um aumento na duração do sono. Esta ação está associada a uma depressão do SNC. No teste de Rota rod o tratamento não interferiu a coordenação motora dos animais. No campo aberto, houve um aumento no tempo parado e tempo gasto no centro e uma diminuição no numero de comportamento de auto-limpeza pelo tratamento com a FAQ; O tratamento com a FD aumentou numero de levantada e tempo gasto no centro e diminui tempo parado. A FH diminui numero de levantada e a quantidade de bolos fecais enquanto aumentou tempo gasto no centro. No teste de LCE, a FAQ e FD aumentaram tempo e a porcentagem de entrada no braço aberto enquanto a FH não alterou o comportamento aversivo. O LCE é um teste específico para avaliar atividade tipo ansiolítica / ansiogênica de fármaco que produzem efeitos no sistema nervoso central. Os resultados encontrados neste teste confirmam a atividade tipo ansiolíticos vista anteriormente com os outros testes realizados. No teste de CCE as transições foram relatadas como índice de atividade exploratória e habituação ao longo do tempo, enquanto o tempo gasto em cada compartimento é considerado como um reflexo de aversão. O resultado obtido mostrou que a FAQ diminui o numero de transições (efeito sedativo) enquanto a FD o aumentou. Na busca de

mecanismo de ação envolvido, o pré-tratamento com o flumazenil, um antagonista competitivo específico dos receptores benzodiazepínicos, não reverteu o efeito tipo ansiolítico da FD enquanto o NAN-190, um antagonista seletivo do receptor 5-HT_{1A} bloqueou o efeito tipo ansiolítico observado tanto no teste de LCE quanto no teste da CCE.

Conclusões

Os resultados mostram que o extrato etanólico das folhas desta espécie vegetal tem efeito depressor do SNC e sugere uma atividade tipo ansiolítica da FD que envolve sistema serotoninérgico sem alterar padrões comportamentais indicativos de comprometimento da atividade motora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Archer, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Anim. Behav.*, v.21, n.2, p.205-235, 1973.
- Carlini EA, Contar J de DP, Silva-Filho AR, da Silveira-Filho NG, Frochtengarten ML, Bueno OF. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. *J Ethnopharmacol* 1986; 17: 37- 64.
- Crawley JN, Goodwin FK. 1980. Preliminary report of a simple animal behavior for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav* 13: 167–170.
- Dunham NW, Miya TS 1957. A note on simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *J Am Pharm* 46: 208-209
- Ferri,P.H. Quimica de produtos naturais :métodos gerais .In:DI STASI,L.C. (org.). Plantas medicinais: arte e ciência.São Paulo: Editoria da Universidade Estadual da Paulista,1996.p.129 – 156.
- Kato, M.J. Global phytochemistry: the Brazilian approach. *Phytochemistry*, v.57, n.5, p.621-623, 2001.
- Lister, R. G (1990). Ethological-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacological Therapy*, 46, 321-340.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open-closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14, 149-167.
- Sielgel, P.S. A simple electronic device for the measurement of gross bodily activity of small animals. *J.Psychol.*, v.21, p.227-236, 1946.