

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

SCREENING FARMACOLÓGICO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES  
ISOLADAS DE ESPÉCIES DE *LORANTHACEAE*.

BÁRBARA GUIMARÃES DE MELO CARDOSO, FAPEAM

MANAUS

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

PIB-B/0070/2012

SCREENING FARMACOLÓGICO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES  
ISOLADAS DE ESPÉCIES DE *LORANTHACEAE*.

Bolsista: Bárbara Guimarães de Melo Cardoso, FAPEAM

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cinthya Iamille Frithz Brandão de Oliveira

MANAUS

2013

## SUMÁRIO

<b>1 RESUMO .....</b>	<b>4</b>
<b>2 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>5</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>7</b>
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>8</b>
4.1    Amostras e animais.....	8
4.2    Modelos experimentais.....	8
4.2.1.    Triagem farmacológica inicial.....	9
4.2.2.    Placa quente.....	9
4.2.3.    Campo aberto.....	10
4.2.4.    Nado forçado.....	10
4.2.5.    Tempo de sono induzido por barbitúrio.....	11
4.3.1.    Análise estatística.....	11
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>12</b>
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>17</b>
<b>7 CRONOGRAMA DE ATIVIDADES.....</b>	<b>18</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS .....</b>	<b>19</b>

## 1. RESUMO

Apesar da rica diversidade brasileira, o uso deste recurso biológico pouco tem sido aproveitado, especialmente pelos povos tradicionais, pioneiros no uso dos recursos naturais para sua sobrevivência. A pesquisa farmacológica para o entendimento do mecanismo de ação e até primariamente, para a verificação da indicação popular do uso medicamentoso de plantas da região amazônica, tem ganhado força com o estabelecimento de profissionais capacitados nesta área de atuação. Uma espécie vegetal que possui relatos de uso medicinal, vem da família das Loranthaceae, um grupo de angiospérmicas, formado estritamente por espécies hemiparasitas em ramos de plantas lenhosas, conhecidas popularmente como erva-de-passarinho. Este trabalho centra-se na pesquisa dos efeitos farmacológicos gerais desta espécie, já que estudos de comprovação de atividades farmacológicas ainda são escassos para a mesma. Com o objetivo de identificar efeitos centrais e/ou periféricos, a triagem farmacológica inicial é um recurso básico para a continuidade desta pesquisa. Nos modelos testados as frações se comportaram com características de manutenção do estado de vigília, e atenção em relação à ação depressiva, no entanto este efeito parece não estar sendo regulado por mecanismo de integração central. Na triagem farmacológica inicial todos os animais apresentaram redução da micção e da defecação. Estas respostas do screening inicial de atividade farmacológica dão um passo importante no olhar mais atento à esta espécie, considerando sua atividade de vigília ser um potencial uso terapêutico.

**Palavras-chave:** Loranthaceae, medicina popular, erva de passarinho.

## 1. INTRODUÇÃO

A riqueza da biodiversidade brasileira, na qual se estima existir cerca de 55 mil espécies, está entre os elementos favoráveis ao desenvolvimento de medicamentos a partir de produtos naturais. “Somente a região amazônica cobre 5 milhões de km<sup>2</sup>, com 33 mil espécies de plantas superiores, sendo pelo menos 10 mil destas medicinais, aromáticas e úteis.” (FERREIRA, 1988 *apud* OMENA, 2007).

Há milhares de décadas que o homem vem buscando nas plantas a cura para as mais variadas enfermidades. A busca da cura de doenças pelo uso de ervas, folhas e raízes, provavelmente foi uma das primeiras formas de utilização de produtos naturais. Os efeitos das plantas em determinadas enfermidades foi observado várias vezes, levando à aquisição de conhecimentos empíricos, os quais foram passados de geração em geração (BERTINI et al, 2005). Portanto, as plantas medicinais, como ficaram conhecidas, foram ganhando espaço e tornaram-se uma das fontes mais importantes de medicamentos, comprovando as suas enormes qualidades medicinais para a preservação da saúde humana, e apresentando propriedades inexploradas (HEINRICH, 2003).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as plantas medicinais deveriam ser as melhores fontes de fármacos, devido aos estudos intensivos, realizados nas últimas décadas, voltados para a terapia natural (BERTINI et al., 2005).

O Brasil é um dos países mais ricos do mundo em termos de biodiversidade, fazendo parte de um grupo de 17 países que possuem mais de dois terços dos recursos biológicos da Terra. A família Loranthaceae constitui um grupo de plantas angiospérmicas, formado estritamente por espécies hemiparasitas em ramos de plantas lenhosas. Apresenta distribuição cosmopolita, porém os gêneros são restritos ao Velho ou ao Novo Mundo. No Brasil, são popularmente

denominadas de ervas de passarinho em alusão ao modo de dispersão das sementes, e estão representadas por 12 gêneros e 135 espécies. Destes, foram reconhecidos para o estado do Rio de Janeiro seis gêneros, 27 espécies e seis variedades. Destacam-se *Struthanthus* com 17 espécies e seis variedades; os demais gêneros são: *Psittacanthus* com cinco espécies, *Phthirusa* com três espécies e *Cladocolea*, *Ixocactus* e *Tripodanthus* com uma espécie cada (Mittermeier *et al.*1999).



Fig. 1. Erva de passarinho. Imagem original:  
[http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open\\_sp.php?img=5142](http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=5142)

## 2. OBJETIVOS

### **Objetivo Geral**

- Avaliar os efeitos farmacológicos básicos do extrato e frações isoladas de *Loranthaceae*, em modelos experimentais pré-clínicos.

### **Objetivos Específicos**

- Avaliar o efeito farmacológico do extrato da *Loranthaceae*, na atividade antinociceptiva em modelo da placa quente;
- Avaliar o efeito farmacológico do extrato da *Loranthaceae*, na atividade motora no modelo de campo aberto;
- Avaliar o efeito farmacológico do extrato da *Loranthaceae*, na atividade antidepressiva usando o teste de nado forçado;
- Avaliar o efeito farmacológico do extrato da *Loranthaceae*, nas atividades hipnóticas e sedativas, em modelo de sono induzido por pentobarbital.

### 3. METODOLOGIA

#### 4.1 Amostras e Animais

O extrato e frações de *Loranthaceae* foram fornecidos pela equipe do Prof. Dr. Anderson Cavalcanti Guimarães, do Curso de Ciências Farmacêuticas ICET/UFAM, os quais foram responsáveis pela coleta, identificação e fitoquímica da espécie, no entanto não nos repassaram os dados gerais até a presente data.

O uso de animais de laboratório em pesquisas, em particular os camundongos, serve de modelos simplificados do comportamento humano (FAGUNDES, D.J. et al; 2004). Com isso, os camundongos tornaram-se fundamentais em estudos etológicos e permitem que os novos fármacos sejam avaliados antes de serem testados em seres humanos (MACHADO, B.B; 2006).

Utilizamos camundongos Swiss, machos e fêmeas (20-30g), oriundos do Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas, em grupos de seis animais. Os animais foram mantidos acondicionados em gaiolas de polietileno e mantidos sob temperatura média de 22°C, em ciclos claro/escuro de 12/12 horas, recebendo ração padrão e água à vontade. Todos os protocolos seguiram estritamente as normas internacionais de cuidados com animais de laboratório. Os protocolos deste projeto foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da UFAM, sob os N<sup>os</sup>. 049 e 051/2011.

#### 4.2 Modelos experimentais

Os seguintes grupos foram utilizados, sendo o número total de animais para cada grupo igual à 6, exceto para o teste da placa quente onde o n=10:

1. Grupo Controle: recebeu tratamento pela via intraperitoneal, i.p., de solução salina (NaCl 0,9% + 3 gotas Twenn 80; 10mL/Kg);

2. Grupo LPEB (extrato bruto) }  
3. Grupo MC4 (fração etanólica) } receberam tratamento, i. p., das respectivas frações, na concentração de 100 mg/kg.

#### **4.2.1. Triagem farmacológica inicial**

Teste preliminar para a condução dos modelos mais específicos. Após tratamento dos grupos, as respostas exibidas pelos animais, como: catatonia, analgesia, resposta ao toque, perda de reflexo corneal, tônus muscular, permitiram uma avaliação preliminar dos efeitos farmacológicos da espécie em teste. Neste modelo, os tempos de observação foram no momento da administração, 15, 30, 60, 90 minutos, 24 e 48 horas após os tratamentos.

#### **4.2.2. Placa quente**

A ação analgésica da espécie foi testada neste modelo. Nele, foi avaliado se a latência da resposta de lambar a pata traseira, por camundongos, quando foram colocados sobre uma placa de metal aquecida a 50° C. A lógica desse teste baseou-se no fato de que essa temperatura de 50° C não é, num primeiro momento, aversiva para camundongos. Contudo, depois de alguns segundos explorando normalmente o ambiente, eles subitamente emitiram a resposta de lambar uma das patas traseiras. Se permanecessem na placa, passariam a apresentar, na sequência temporal, a resposta de lambar a pata com frequência crescente, seguida de saltos, vocalizações e tentativas de fuga desse ambiente (comportamentos típicos de condições aversivas crescentes) (HUNZIKER, M.H.L., 2010).

Os camundongos tratados foram colocados em uma placa quente à temperatura controlada de 55°C±0,1. Foram registrados os segundos transcorridos antes que o animal mostrasse resposta característica ao estímulo térmico (lambar as patas anteriores e/ou “sapatear” sobre a chapa). O tempo de permanência máximo dos animais (coorte de 25

segundos) sobre a placa quente foi registrado aos 0, 15, 30, 60 e 90 minutos após os tratamentos (BEIRITH et al.,1999; PIRES et al., 2009 *apud* RODRIGUES, E. et al; 2010).

#### **4.2.3. Campo Aberto**

Este modelo foi amplamente utilizado para observação de estereotipia induzida por psicoestimulantes e outras drogas psicotrópicas, quantificando movimentos locomotores e exploratórios dos animais (MACHADO, B.B; 2006; GORENSTEIN, C. et al;1999)

Realizado em caixa de acrílico com dimensões 30x30x15, com fundo dividido em 09 quadrados iguais, onde se avaliou a movimentação espontânea (atividade exploratória dos animais) e pôde-se avaliar também o medo dos animais (imobilidade na caixa e a capacidade de exploração do ambiente e fuga). A atividade exploratória dos animais foi avaliada pela movimentação espontânea (número de cruzamentos, com as quatro patas, entre as divisões do campo), a frequência da autolimpeza (“grooming”) e de levantar (“rearing”), registrados durante um período de 4 minutos, após os tratamentos. (MACHADO, B.B et al., 2006).

Os grupos de animais foram tratados como anteriormente descrito, e 30 minutos após são colocados no centro do campo. Foi aguardado um período de 1 minuto para ambientação ao local e logo em seguida iniciou-se a quantificação dos movimentos.

#### **4.2.4. Nado forçado**

O Teste do Nado Forçado foi o modelo farmacológico “in vivo” utilizado para avaliação da atividade antidepressiva, cuja imobilidade refletia o estado de baixo humor relacionado com a impossibilidade de escape durante a situação experimental (PORSOLT et al., 1977 *apud* LIMA, V.M. 2010).

Os animais foram divididos em grupos e tratados como descrito e após 30 minutos foram colocados, individualmente, num cilindro de vidro (altura = 40 cm; diâmetro = 25 cm), contendo 15 cm de água por um período de 6 minutos, no qual foi registrado o tempo total de imobilidade para cada animal. A imobilidade do animal foi considerada quando este fez apenas os movimentos necessários para manter sua cabeça acima do nível da água (BORSINI, F.; 1988).

#### **4.2.5. Tempo de sono induzido por barbitúrio**

Avaliação de atividade depressora central. Camundongos, tratados conforme descrito, receberam, após 30 minutos, pentobarbital (60mg/kg, i.p.). Observou-se o tempo de latência e tempo total de sono nestes animais (BATISTA, 1993 *apud* OMENA, 2007). O tempo de indução do sono (latência) foi o período decorrido da administração do barbitúrio até a perda do reflexo de endireitamento postural. O tempo de duração do sono foi considerado como sendo o intervalo de tempo entre a perda e a recuperação desse reflexo.

#### **4.3.1. Análise Estatística**

Os níveis de significância entre os grupos experimentais e o controle foram feitos utilizando-se o Teste T de Student e ou ANOVA. Os valores foram considerados significativos quando  $*p < 0,05$ ,  $**p < 0,01$ , e expressos como média  $\pm$  erro padrão da média.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nos modelos testados as frações se comportaram de uma forma mais estimulante em relação ao grupo controle de solução salina.

Na triagem farmacológica inicial todos os animais apresentaram redução da micção e da defecação.

Os modelos utilizados, especialmente para avaliar o comportamento ambiental, como o Campo Aberto, onde os animais colocados em um ambiente estranho (caixa de acrílico) lidam com o paradigma de explorar o novo local ou evitar uma área aberta sem segurança, onde eles poderiam encontrar alguma ameaça. O comportamento também é influenciado pela tigmotaxia, já que quando os camundongos entram na caixa de acrílico, eles tendem a explorar principalmente a zona periférica, pois se sentem mais protegidos, após alguns minutos de experimento a tigmotaxia é reduzida. Os agentes ansiolíticos e depressivos minimizam a atividade, o comportamento exploratório e a defecação dos animais, enquanto que os agentes excitatórios e antidepressivos aumentam estas ações.

Em nosso estudo, os animais testados com as frações da espécie desta pesquisa, passaram a maior parte do tempo em atividade exploratória do que parados, conforme observado na figura 2 e na tabela 1.

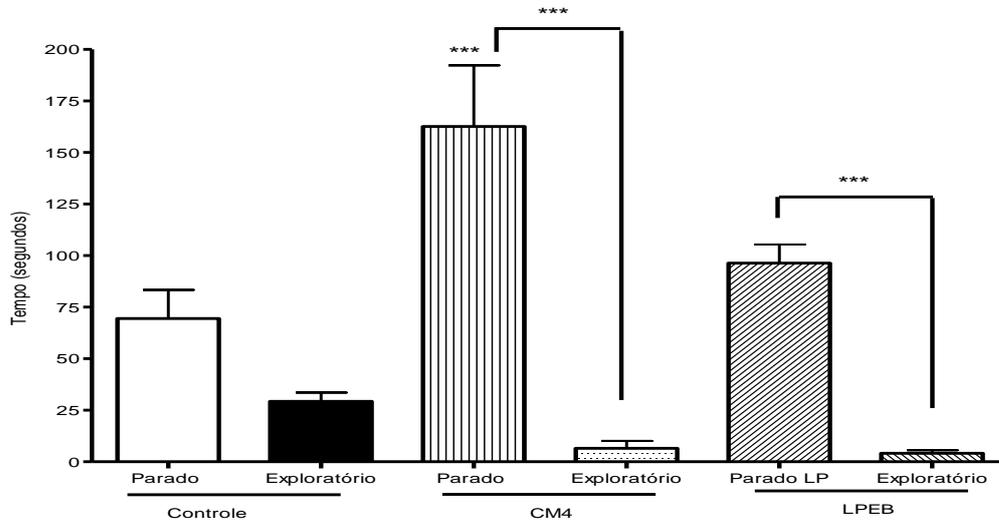


Fig. 2. Atividade das frações de *Loranthaceae* no modelo do campo aberto, em relação à atividade exploratória. \*\*\* $p < 0,001$  vs Controle (ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

Tabela 1. Atividade das frações de *Loranthaceae* no modelo do campo aberto, em relação à atividade exploratória.

Grupo	Número de vezes				
	Movimentação na periferia do campo	Movimentação no centro o campo	Auto-limpeza	Levantar-se	Excreção
Controle	54,00±6,70	9,80±1,63	1,67±0,33	18,67±3,90	3,50±0,50
CM4	5,5±2,99	1,0±0,68	1,33±0,61	1,67±0,17***	0,0±0,0
LPEB	4,17±1,44 ***	0,0±0,0	2,83±1,01	0,17±0,17***	0,0±0,0

\*\*\* $p < 0,001$  vs Controle (ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

A fração LPEB apresentou atividade uma acentuada diminuição na atividade depressiva (movimentação na periferia) porém sem exacerbar a atividade exploratória “corajosa” (levantar-se).

O outro modelo experimental muito para pesquisa de agentes depressores, o teste de Nado Forçado, consiste na observação do tempo em que os animais se mantem imóveis em um cilindro cheio de água (somente realizando movimentos necessários para manter a cabeça fora d'água). Os agentes antidepressivos agem induzindo um comportamento mais ativo e com isso os animais tentam escapar do cilindro mais vezes e por um maior período de tempo, enquanto que os agentes depressivos e ansiolíticos fazem o contrário, os animais ficam imóveis por mais tempo.

Em nosso teste, os animais testados com as frações confirmaram a atividade motora diminuída, que pode estar realmente associada à característica inibidora modulatória.

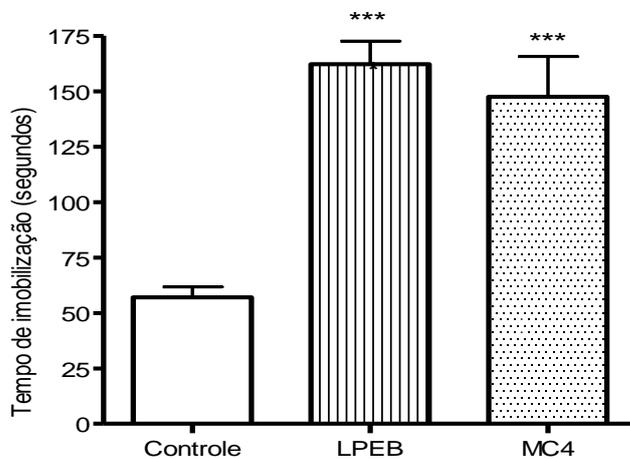


Fig. 3. Avaliação da atividade antidepressiva das frações de *Loranthaceae* no modelo do nado forçado. \* $p < 0,05$  E \*\* $p < 0,01$  vs Controle (ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

Tabela 2. Avaliação da atividade antidepressiva das frações de *Loranthaceae* no modelo do nado forçado.

Grupo	Tempo de imobilidade (em segundos)
Controle	57,00±4,76
CM4	162,2±10,46***
LPEB	147,5±18,08***

\*\*\* $p < 0,001$  vs Controle (ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

No modelo da Placa Quente não houve diferença estatística entre os grupos testados, dando indícios que a resposta modulatória não tem integração central, conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Avaliação da atividade antiinflamatória das frações de *Loranthaceae* via resposta de integração central pelo modelo da Placa Quente. (ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

Grupo	Tempo de observação de resposta após administração (em minutos)				
	0	15	30	60	90
Controle	4,90±0,78	6,70±1,25	14,00±0,96	9,50±1,44	10,50±1,64
LPEB	19,20±0,99	18,00±1,28	17,30±1,30	19,40±0,90	18,80±1,14
MC4	17,30±1,18	13,00±1,19	12,60±1,15	16,40±1,16	17,60±1,12

Não houve diferença estatística entre os grupos testados, portanto não há participação de resposta de integração central envolvida nas ações desta espécie vegetal pela indicação deste modelo experimental.

Um teste bastante utilizado para verificar a atividade hipnótica da droga testada é o experimento de Tempo de Sono induzido por Pentobarbital, no qual o tempo que os animais demoraram para perder o reflexo de endireitamento, ou seja, o reflexo de voltar para a posição de decúbito ventral quando colocados em decúbito ventral, que é chamado de tempo de latência. E também é analisada a duração do tempo em que mantem este reflexo perdido, que é o tempo de sono propriamente dito. Neste experimento, qualquer droga que diminua a latência para o sono e aumente seu tempo total possui atividades hipnóticas.

Nesta pesquisa, as frações testadas foram capazes de diminuir o tempo total do sono em relação ao controle, demonstrando sua capacidade de reverter o estado de sono, mantendo a vigília. O desvio padrão neste modelo foi alto, devido especialmente ao comportamento de vários animais que não chegaram nem a dormir.

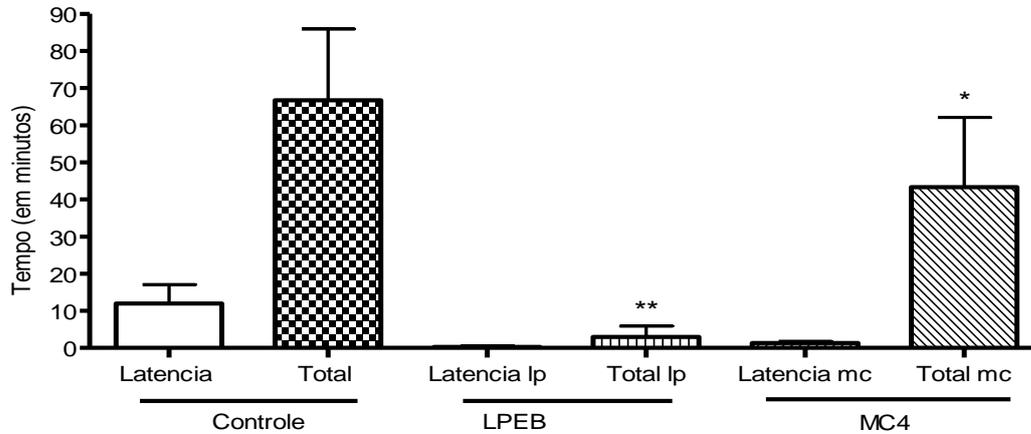


Fig. 4. Avaliação da atividade hipno-sedativa das frações de *Loranthaceae* pelo modelo do tempo de sono induzido por pentobarbital. \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$  vs Controle (ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

Tabela 4. Avaliação da atividade hipno-sedativa das frações de *Loranthaceae* pelo modelo do tempo de sono induzido por pentobarbital.

Grupo	Tempo de latência (minutos)	Tempo total de sono (minutos)
Controle	11,97±5,11	66,73±19,18
LPEB	0,29±0,29	2,94±2,94**
MC4	1,32±0,42	43,32±18,72*

\* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$  vs Controle (ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

Por essas respostas nesses modelos parciais, as frações testadas tem uma potência de resposta mais estimulatória com relação ao grupo controle.

## **6. Conclusões**

Com base nos resultados obtidos, podemos inferir que as frações de *Loranthacea* testadas neste trabalho apresentaram atividade de manutenção e prolongamento do estado da vigília, com redução da atividade locomotória, sem interferência de modulação central e sem interferir na qualidade de locomoção geral do animal.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERTINI, L. M.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, C. L. L.; MENEZES, E. A.; et al. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do Nordeste do Brasil. *Infarma*; 17: 314, 80p. 2005.

DUTRA, R. C.; TAVARES, C. Z.; FERRAZ, S. O.; SOUSA, O. V.; PIMENTA, D. S. Investigação das atividades analgésica e antiinflamatória do extrato metanólico dos rizomas de *Echinodorus grandiflorus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 16(4): 469-474, Out./Dez. 2006.

HEINRICH, M. Ethnobotany and natural products: the search for new molecules new treatments of old diseases or a better understanding of the indigenous cultures? *Current topics in Medicinal Chemistry*; 3: 29-42. 2003.

MACHADO, B. B.; SILVA, J. A.; GONÇALVES, W. N.; PISTORI, H.; SOUZA, A. S. Topolino: Software Livre para Automatização do Experimento do Campo Aberto. XV Seminário de Computação - SEMINCO, Blumenau, Novembro 20-22, 2006.

OMENA, M. L. R. A. Ensaio etnofarmacológico de espécies vegetais com ação no sistema nervoso central, originários do bioma caatinga. *Saúde & ambiente em revista, Duque de Caxias*, v.2, n.2, p.92-107, jul-dez 2007.

RODRIGUES, E.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PIRES, J. M. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas. Parte I. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 20(6): 981-991, Dez. 2010.

SOARES, L. S.; PÉREZ, C. D.; MAIA, M. B. S.; SILVA, R. S.; MELO, L. F. A. Avaliação da atividade antiinflamatória e analgésica do extrato bruto hidroalcoólico do zoantídeo

- Pacaribaeorum (Duchassaing & Michelotti, 1860). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 16(4): 463-468, Out./Dez. 2006.
- CORRÊA, M.P. 1969. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*, v.4. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, IBDF.
- SCHULTES, R.E. & RAFFAUF, R.F. 1999. *The healing forest: medicinal and toxic plants of the northwest Amazonia*. New York: Dioscorides Press, 346p.
- JOLY, A. Botânica : introdução á taxonomia vegetal. São Paulo: Ed. Nacional, 1975.p. 246, 250, 252-253.
- COE, FG, Anderson GJ 1996. Screening of medicinal plants used by the Garifuna of Eastern Nicaragua for bioactive compounds. *J Ethnopharmacol* 53: 29-50.
- CORRÊA, M.F.P.; MELO, G.O.; COSTA, S.S. Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da asma. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 785-797, 2008.
- SIMÕES, C.M.O., et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Editora: UFSC, p. 403-434, 2002.
- MITTERMEIER, R.A.; MYERS, N. & MITTERMEIER, C.G. *Hotspots: earth's biologically richest and endangered terrestrial ecoregions*. Mexico, CEMEX, 430p. 1999.
- BORSINI, F.; MELI, A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology*, 94: 147-160, 1988.
- FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécie de animais de uso corrente. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 19: 59-65, 2004.
- GORENSTEIN, C.; SCAVONE, C.. Avanços em psicofarmacologia - mecanismos de ação de psicofármacos hoje. *Rev Bras Psiquiatr*, 21 (1), 1999.
- HUNZIKER, M.H.L.. Comportamento de dor: análise funcional e alguns dados experimentais. *Temas em Psicologia*, Vol. 18, no 2, 327 – 333, 2010.
- LIMA, Valéria Martins de. Avaliação da atividade antidepressiva e ansiolítica do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L / Valéria Martins de Lima. – Botucatu : [s.n.], 2010.