

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

SCREENING FARMACOLÓGICO DE EXTRATOS E FRAÇÕES  
ISOLADAS DE *HIMANTHUS SUCUUBA*

JULIANA RAMPAZZO BUEMERAD, CNPq

MANAUS

Agosto/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/0009/2012

SCREENING FARMACOLÓGICO DE EXTRATOS E FRAÇÕES ISOLADAS DE  
*HIMATANTHUS SUCUUBA*

Bolsista: Juliana Rampazzo Buemerad, CNPq  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cinthya Iamille Frithz Brandão de Oliveira

MANAUS

Agosto / 2013

## SUMÁRIO

1	RESUMO .....	5
2	INTRODUÇÃO.....	6
3	JUSTIFICATIVA.....	8
4	OBJETIVOS.....	10
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
6	RESULTADOS.....	16
7	DISCUSSÃO.....	22
8	CONCLUSÕES.....	25
9	CRONOGRAMA.....	26
10	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

## LISTA DE FIGURAS

1. Atividade das frações de *Himatanthus Sucuuba* no modelo do campo aberto, em relação à atividade exploratória.....Página 17
2. Avaliação da atividade antidepressiva das frações de *Himatanthus Sucuuba* no modelo do nado forçado.....Página 19
3. Avaliação da atividade hipno-sedativa das frações de *Endicheria* pelo modelo do tempo de sono induzido por pentobarbital.....Página 20

## 1. RESUMO

Diversas plantas ainda são muito utilizadas pela população como remédios para curar as mais diversas patologias. Além de estas drogas naturais representarem a única chance de cura para diversas populações, também possibilita a descoberta de novos fármacos. Um exemplo disto é a *H. sucuba*, a qual é muito utilizada na região amazônica do Peru e do Brasil para tratar diversas enfermidades e que por isso atraiu pesquisadores que conseguiram identificar princípios ativos que de fato fazem com que a planta possua atividades anti-inflamatória, analgésica, anti-leishmaniose e citotóxica. Visando identificar e compreender melhor esta espécie, este trabalho se propôs a avaliar as principais atividades fisiológicas produzidas pela administração de 100 mg/kg de duas frações hexânicas. No teste de atividade exploratória (campo aberto), as frações apresentaram um aumento no tempo de mobilização no campo aberto, demonstrando que as características exploratórias ficaram diminuídas em relação ao grupo controle o que pode indicar um efeito ansiolítico; no nado forçado a elevação no tempo de permanência parado nos animais testados, sugere uma possível atividade depressora, mas este efeito só pode ser confirmado com um tratamento mais longo (14 ou 21 dias). A avaliação do efeito hipno-sedativo demonstrou redução na latência da indução o sono e o tempo total do sono nos animais do teste, descartando a ação depressora central destas frações. Em comparação ao modelo do nado forçado, em que os animais apresentaram um tempo de mobilização maior que o grupo controle, podemos pensar que a planta testada tende a reduzir a ansiedade sem alterar o sistema de vigília.

**Palavras-chave:** sucuba, comportamento, relaxante

## 2. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde. Ainda hoje nas regiões mais pobres do Brasil e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (VEIGA *et al.*, 2005).

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos. Este tipo de cultura medicinal desperta, de maneira indireta, o interesse de pesquisadores (MACIEL *et al.*, 2002).

O programa de Medicina Tradicional da OMS ressalta a importância do estudo das plantas usadas na medicina popular com o objetivo de verificar, tanto seu possível efeito terapêutico, como também a possível presença de substâncias tóxicas que podem existir nestas plantas. Estes fatos enfatizam a necessidade de metodologia científica adequada para caracterizar os efeitos fisiológicos, farmacológicos e toxicológicos das plantas medicinais (DINIZ, 2006).

Em diversos modelos experimentais, os camundongos são utilizados para avaliação da atividade farmacológica de extratos vegetais e de formas farmacêuticas. Esta experimentação animal se reveste de uma importância incalculável nas pesquisas científicas, contribuindo sobremaneira para o desenvolvimento da ciência e tecnologia. Sua vasta contribuição nos diferentes campos científicos vem promovendo ao longo dos anos a descoberta de medidas

profiláticas e tratamentos de inúmeras enfermidades que acometem os seres vivos. (CHORILLI *et al.*, 2007)

Nesse contexto, este trabalho visa analisar os efeitos farmacológicos dos extratos e frações isoladas da planta *Himatanthus sucuuba* utilizando modelos experimentais com camundongos.

Esta planta, *Himatanthus sucuuba*, é da família Apocynaceae, ordem Gentianales e subclasse Asteridae, é uma árvore de grande porte, conhecida como sucuuba ou janaguba e nativa da região Amazônica, que fornece madeira para a construção civil e carpintaria. Na medicina popular, o látex e as folhas são utilizados como antitumoral, antifúngico, antianêmico, vermífugo e no tratamento de gastrites e artrites (LARROSA *et al.*, 2005).

### 3. JUSTIFICATIVA

Diante da imensidão da floresta amazônica nos deparamos com uma enorme quantidade de plantas que podem ser muito útil às necessidades crescentes da medicina moderna, entre elas a *Himatanthus sucuuba*, que é uma espécie comumente encontrada na região amazônica. O extrato de suas cascas, galhos e látex são utilizados para casos de ferida, vermífugo, para tratamento de artrite, dor, tumor, úlcera, gripe, herpes, leishmaniose, inflamação no útero e diarreia, por povos do Peru, Brasil e Bolívia. (Fernandes *et al.*, 2000; Di Stasi & Hiruma-Lima, 2002; Larrosa & Duarte, 2005 apud RODRIGUES *et al.*; 2010)

Já foram isolados e identificados 11 constituintes de frações bioativas desta planta: iridóides, como plumericina, plumieridina, allamandicina, e o novo produto natural (2'R, 3R, 4R, 4aS, 7aR) - methyl3 - hydroxy - 4' - ((S) - 1 - hydroxyethyl) - 5' - oxo - 3, 4, 4a, 7a - tetrahydro - 1H, 5' H - spiro [cyclopenta [c] pyran - 7, 2' - furan] - 4 - carboxylatee; flavonoides, como biocanina A, diidrobiocanina A, dalbergioidina, naringenina, ferreirina, e diidrocajanina; e também o pinoresinol (WALTENBERGER, B *et al.*, 2011).

Em estudos publicados por Miranda e colaboradores (2000), a fração hexânica inibiu a formação do edema (no modelo de edema de pata induzido por carreginina) em 35,9% em uma dose de 200 mg/kg (v.o); os triterpenos presentes nesta fração foram identificados como acetato de lupeol, alfa-amirina e cinamato de lupeol; a fração contendo apenas cinamatos inibiu o edema e as contrações abdominais (no modelo de constrição abdominal induzido por ácido acético) entre 50-40% e 57,9%, respectivamente, na dose de 100 mg/kg (v.o).

Atividade antifúngica e antiprotozoária devido aos compostos iridóides foram encontradas na casca e látex desta planta. (SILVA *et al.*; 2010)

A *H. sucuuba* aumenta a concentração de óxido nítrico (NO) e de fator de necrose tumoral -  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e diminui a produção de fator transformador do crescimento -  $\beta$  (TGF- $\beta$ )



nos macrófagos, assim tem atividade contra a forma amastigota intracelular de *Leishmania amazonensis*, agente causador de leishmaniose cutânea. (SOARES *et al.*; 2010).

Outros estudos investigaram a atividade citotóxica da fração hexânica in vitro da *H. sucuuba* usando diferentes linhagens de células cancerígenas. O resultado encontrado foi de inibição de 50% do crescimento, valores maiores que o grupo controle, para todas as linhagens de células, exceto para carcinoma de células pulmonares (WOOD *et al.*; 2001).

No entanto, estudos para avaliar os efeitos que os extratos e as frações isoladas de *H. sucuuba* podem causar no comportamento animal de forma geral ainda não foram efetuados, assim a pesquisa se faz necessária para confirmar suas ações farmacológicas.

#### **4. OBJETIVOS**

O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos farmacológicos do extrato e frações biologicamente ativas de *Himatanthus sukuuba* (*Spruce ex Müll. Arg.*) Woodson em fase pré-clínica.

Especificamente, objetivamos avaliar a eficácia do extrato e suas frações nas atividades motoras utilizando modelo de campo aberto; atividades antidepressivas por meio do teste de nado forçado, atividade analgésica com o modelo de placa quente e o comprometimento da resposta viabilizada pela via central, contribuindo assim para o desenvolvimento regional, propriedade intelectual local e formação pessoal e profissional.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1. Amostra

A equipe do Prof. Dr. Jefferson Rocha de Andrade e Silva do Departamento de Química/UFAM forneceu as frações hexânicas de *Himatanthus sucuuba*, denominadas EHRFX e EHRS2.

As frações fornecidas em pequenas quantidades para estes testes farmacológicos foram diluídas à concentração constante de 100 mg / kg (do peso do animal), utilizando-se o Tween 80 para viabilizar a dissolução.

### 5.2 Animais e considerações de ética

Foram utilizados camundongos Swiss, machos (20-30g), oriundos do Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas. Os animais foram 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 até o momento dos testes. Todos os protocolos seguiram estritamente as normas internacionais de cuidados com animais de laboratório e este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA), sob o número 051/2011 - CEEA.

### 5.3 Modelos experimentais:

Os seguintes grupos foram utilizados:

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

2. Grupo EHRFX }  
3. Grupo EHRS2 } receberam tratamento, i. p., das respectivas frações, na concentração de 100 mg/kg.

#### **5.4. Triagem Farmacológica inicial**

Foi realizado um teste preliminar para a condução dos modelos mais específicos com as frações estudadas. Após tratamento dos grupos conforme descrito anteriormente, foi observada as respostas comportamentais e fisiológicas exibidas pelos animais, nos tempos de 15, 30, 60, 90 minutos, 24 e 48 horas após os tratamentos. As respostas mais marcantes de observação foram: catatonia, analgesia, resposta ao toque, perda de reflexo corneal, tônus muscular, piloereção, excreção (fezes, urina) que permitiram uma avaliação preliminar.

#### **5.5. Pesquisa da Atividade Exploratória: Modelo do Campo Aberto**

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

Realizado em caixa de acrílico com dimensões 30x30x15, com fundo dividido em 09 quadrados iguais, onde se avalia a movimentação espontânea (atividade exploratória dos animais) e pode-se avaliar também o medo dos animais (imobilidade na caixa e a capacidade de exploração do ambiente e fuga). A atividade exploratória dos animais é 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.

Os camundongos, divididos em grupos de 6 animais/cada, foram tratados conforme descrito no item 5.3. e, 30 minutos após a administração, foram colocados individualmente, no centro do campo. Esperou-se o tempo de 1 minuto para ambientação do animal ao local e computou-se pelo período de 5 minutos a atividade desenvolvida pelo animal.

### **5.6. Pesquisa da Atividade Antidepressiva: Modelo do Nado Forçado**

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

Os animais, divididos como descrito anteriormente e tratados da mesma forma que o modelo anterior e após 30 minutos da administração foram colocados, individualmente, num cilindro de vidro (altura = 40 cm; diâmetro = 25 cm), contendo 15 cm de água por um período de 6 minutos (sendo o primeiro minuto para ambientação), no qual registrou-se o tempo total de imobilidade para cada animal. A imobilidade do animal é considerada quando este faz apenas os movimentos necessários para manter sua cabeça acima do nível da água (BORSINI, 1988).

### **5.7. Pesquisa da Atividade Hipno-Sedativa: Modelo do Tempo de Sono induzido por pentobarbital**

Este teste é realizado para verificar se a droga testada possui atividades hipnóticas, sedativas, depressoras ou ansiolíticas nos animais. Aplicando-se a droga e depois de 30 minutos a solução de pentobarbital sódico é aplicada por via intraperitoneal e avalia-se o tempo em que o animal começou a perder reflexos de endireitamento (a incapacidade do

animal de voltar à posição normal de decúbito ventral quando colocado em decúbito dorsal) que é o chamado tempo de latência da droga e também se observa o tempo entre a perda e a recuperação deste reflexo que é o tempo de sono propriamente dito. O critério que é utilizado para considerar se o reflexo de endireitamento foi recuperado é quando o animal consegue sair da posição de decúbito dorsal por três vezes consecutivas. (LAPA *et al.*, 2008)

Os camundongos foram tratados conforme descrito e após 30 minutos, receberam a administração de pentobarbital (50mg/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.

### **5.8. Pesquisa da Atividade Antinociceptiva: Modelo da Placa Quente**

Neste modelo avalia-se a latência da resposta de lambar a pata traseira, por ratos, quando são colocados sobre uma placa de metal aquecida a 50° C. A lógica desse teste baseia-se no fato de que essa temperatura de 50° C não é, num primeiro momento, aversiva para ratos. Contudo, depois de alguns segundos explorando normalmente o ambiente, eles subitamente emitem a resposta de lambar uma das patas traseiras. Se permanecerem na placa, passam 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, 2010).

Os camundongos tratados foram colocados em placa quente à temperatura de aproximadamente 50 °C±1,0 e registrados os segundos transcorridos antes que o animal mostre resposta característica ao estímulo térmico (lambar as patas anteriores e/ou “sapatear” sobre a chapa). O tempo de permanência máximo dos animais sobre a placa quente foi de 25

segundos a fim de evitar dano à pata do animal. Foram registradas as respostas nos tempos 0, 30, 60 e 120 minutos após a administração das frações hexânicas (grupos teste) e da salina (grupo controle). (BEIRITH *et al.*,1999; PIRES *et al.*, 2009 *apud* RODRIGUES, E. *et al.*; 2010).

### **5.9. Análise Estatística**

Os níveis de significância entre os grupos experimentais e o controle foram feitos utilizando-se o Teste T de Student seguida da análise de variância (ANOVA). Os valores foram considerados significativos quando  $p < 0,05$  e foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão da média.

## 6. RESULTADOS

Primeiramente foi realizado o experimento de triagem farmacológica, onde foi analisado o efeito do extrato no comportamento geral dos camundongos no primeiro minuto e depois nos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos. Foram observados os seguintes parâmetros: motilidade, frequência respiratória, piloereção, exoftalmia, movimentos estereotipados, convulsão clônica e tônica, tremores, catalepsia, ptose palpebral, analgesia, ataxia cianose, hiperemia, palidez, micção, defecação, contorção, ereção da cauda, salivação e morte.

O grupo teste foi dividido em 02 grupos de 03 camundongos e em um deles foi aplicado a solução de EHRFX 340mg/34ml e no outro a solução de EHRS2 380mg/38ml. No grupo EHRFX, 02 animais apresentaram redução da defecação e da micção, enquanto que no grupo onde foi aplicada a solução EHRS2 foi visto uma redução da defecação e da micção em 02 camundongos e aumento da motilidade nos 03 camundongos.

No modelo Campo Aberto, onde após 30 minutos de administração da solução salina + tween 80% ou das soluções de *Himathantus sucuuba*, os animais eram colocados na caixa de acrílico transparente com 01 minuto para ambientação e 05 minutos de experimento onde eram observados movimentos exploratórios (ME) centrais (C) e periféricos (P), levantar de patas (L), auto-limpeza (AL), defecações (D) e o tempo em que o animal ficou parado em segundos (Fig 1 e Tabela 1).



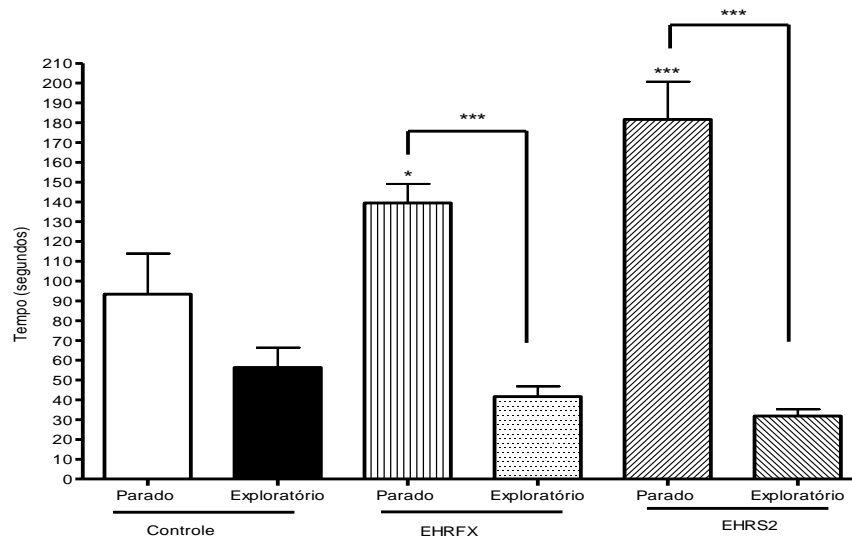


Fig. 1. Atividade das frações de *Himatanthus Sucuuba* no modelo do campo aberto, em relação à atividade exploratória. \* $p < 0,05$  vs Controle; \*\*\*  $p < 0,001$  (ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

Tabela 1. Atividade das frações de *Himatanthus Sucuuba* no modelo do campo aberto, em relação ao comportamento geral.

Grupo / Atividade	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
EHRFX	36,17±4,21***	5,50±1,06	3,83±0,60	22,60±2,64	0,50±0,22
EHRS2	29,00±2,79***	2,33±0,92	2,50±0,67	14,40±2,42	1,33±0,42

\* $p < 0,05$  (entre os grupos testes); \*\*\*  $p < 0,001$  vs Controle (ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

Neste modelo, as frações testadas apresentaram um aumento no tempo de mobilização no campo aberto, demonstrando que as características exploratórias ficaram diminuídas em relação ao grupo controle, indicado especialmente pela busca de esconderijo, nos cantos do campo, destacando nesta situação os efeitos da fração hexânica EHRFX.

No modelo da Placa Quente, onde foram utilizados 10 camundongos/grupo e observadas as manifestações de respostas no tempos de 0, 30, 60 e 120 minutos após administrações em uma placa aquecida à 50°C. Analisou-se o tempo (em segundos) que os animais levavam para lambar suas patas ou tentar escapar da placa quente, mensurando uma atividade central de modulação nociceptiva. Os resultados estão expressos na tabela abaixo.

Tabela 2. Avaliação da atividade anti-inflamatória das frações de *Himatanthus Sucuuba* via resposta de integração central pelo modelo da Placa Quente.

Grupo	Tempo de observação de resposta após administração (em minutos)			
	0	30	60	120
Controle	4,90±0,78	6,70±1,25	9,50±1,44	10,50±1,64
EHRFX	4,20±0,29	6,20±1,15	8,30±1,34	10,20±1,58
EHR2	4,20±0,36	9,30±1,26	7,00±0,98	8,90±0,51

(ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

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.

No modelo do Nado Forçado, onde os animais foram colocados em uma cuba de acrílico de aproximadamente 15cm cheia de água e deu-se 01 minuto para ambientação do animal e depois mais 5 min, nos quais foi observado e contado quantos segundos estes ficavam imóveis, ou seja, faziam somente movimentos necessários para se manter com a cabeça fora d'água. Na figura 2 podemos visualizar estas respostas.

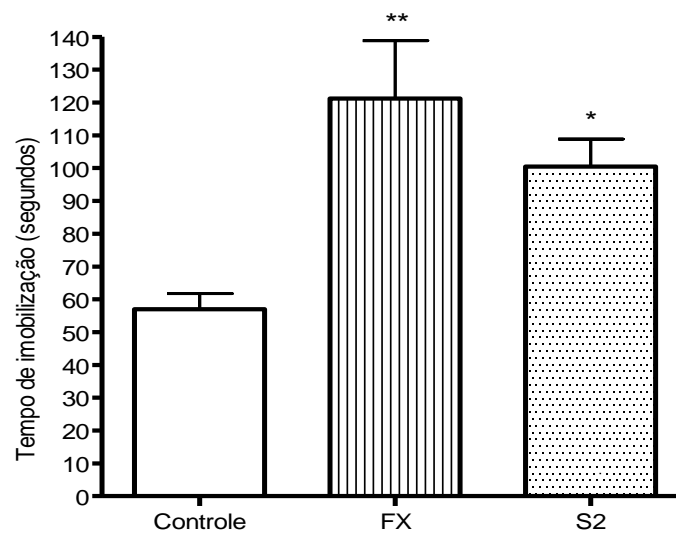


Fig. 2. Avaliação da atividade antidepressiva das frações de *Himatanthus Sucuuba* no modelo do nado forçado. \* $p < 0,05$  E \*\* $p < 0,01$  vs Controle (ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

Tabela 3. Avaliação da atividade antidepressiva das frações de *Himatanthus Sucuuba* no modelo do nado forçado.

Grupo	Tempo de imobilidade (em segundos)
Controle	57,00±4,76
EHRFX	121,20±17,71**
EHR2	100,50±8,31*

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

As frações testadas diferiram do grupo controle, elevando o tempo de permanência parado nos animais testados, sugerindo uma possível atividade depressora, no entanto, o desvio padrão deste teste foi muito elevado, necessitando aumentar o n da amostra a fim de se obter um resultado mais fiel.

O experimento Tempo de Sono, onde pode-se observar o tempo que os animais levavam para dormir (tempo de latência em segundos) e por quanto tempo eles continuavam dormindo (tempo de sono em segundos), apresentou resposta significativa, do ponto de vista estatística para as amostras testadas, conforme demonstrado na figura 3 e tabela 4.

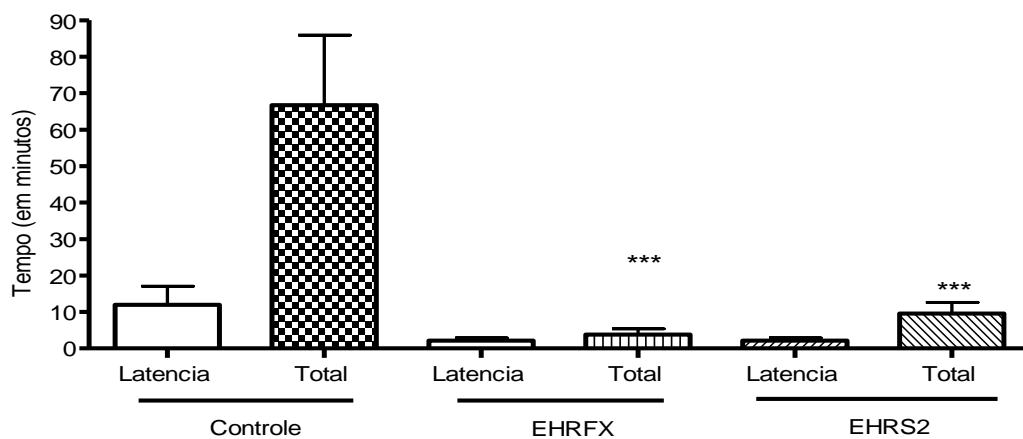


Fig. 3. Avaliação da atividade hipno-sedativa das frações de *Endicheria* pelo modelo do tempo de sono induzido por pentobarbital. \*\*\* $p < 0,001$  vs Controle (ANOVA seguida por Teste de Newman-Keuls).

Tabela 4. Avaliação da atividade hipno-sedativa das frações de *Endicheria* 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
EHRFX	2,81±0,97	12,24±6,53 ***
EHR2	1,19±0,79	7,34±4,72 ***

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

Os resultados mostram que as amostras testadas diferem estatisticamente, tanto na latência quanto no tempo total de sono neste modelo em relação ao controle salina. Estes resultados demonstram que as substâncias testadas reduzem a latência na indução o sono e o tempo total do sono nos animais do teste. Em comparação ao modelo do nado forçado, em que os animais apresentaram um tempo de mobilização maior que o grupo controle, podemos pensar que a planta testada tende a reduzir a ansiedade sem alterar o sistema de vigília.

## 7. DISCUSSÃO

*Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson é uma planta muito utilizada na medicina popular de países como Brasil e Peru para o tratamento de diversas comorbidades como hemorroidas, anemia, artrite e leishmaniose (MIRANDA, *et al.* 2000).

Estudos mostraram que extratos desta planta possuem atividade anti-inflamatória, analgésica, anti-leishmaniose e citotóxica (MIRANDA *et al.* 2000) (SOARES *et al.*; 2010) (WOOD *et al.*; 2001), porém nenhuma pesquisa ainda foi direcionada para identificar os efeitos que os extratos e as frações isoladas de *H. sucuuba* podem causar no comportamento animal após sua administração.

Um experimento muito utilizado para verificar a atividade comportamental dos camundongos após receberem uma droga é o teste do Campo Aberto. 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 (SIMON; DUPUIS; COSTENTIN, 1993).

Nesta pesquisa, os resultados encontrados mostram que houve uma redução na movimentação dos animais (principalmente pelas áreas centrais do campo aberto) em ambas as soluções de *H. sucuuba* quando comparados ao grupo controle. Também foi observado que os animais se mantiveram parados por mais tempo e que o número de defecações foi reduzido. Porém, houve um aumento no número de auto-limpeza (nas duas soluções) e do

levantar de patas (somente na EHRFX). Assim, estes resultados mostram que esta planta possui alguma atividade ansiolítica ou depressiva (KARL, PABST, VON HÖRSTEN; 2003).

Outro modelo experimental muito utilizado para pesquisa de agentes depressores, é o teste de Nado Forçado. Este experimento 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 (YAN *et al.*, 2010).

Os resultados obtidos na pesquisa mostram que os camundongos que receberam as soluções contendo EHRFX e EHR2 se mantiveram imóveis por um período de tempo maior quando comparados ao grupo controle. Demonstrando também efeitos depressores ou ansiolíticos desta planta.

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 (VIGO, 2008) (DE SOUZA, 2006).

Portanto, já que foram encontrados tempos de latência e total de sono maiores nos grupos de camundongos que receberam as soluções contendo extratos de *H. succuba* quando comparado ao grupo controle, pode-se concluir que esta planta também possui atividades

hipnóticas o que confirma os achados nos outros experimentos descritos acima de que a droga teria propriedades ansiolíticas ou depressoras.

A placa quente é um experimento muito utilizado para determinar a eficácia analgésica da droga testada. Os camundongos são colocados em cima de uma placa sob temperatura de 55°-70°C e são observados o tempo necessário para que haja respostas nociceptivas, como pular, balançar as patas e lambê-las. Quando são testadas drogas anti-inflamatórias, analgésicas, depressoras e sedativas, o tempo em que o animal suporta ficar na placa quente é maior. A *H. succuba* já possui atividades inflamatórias e analgésicas comprovadas pelo modelo de edema de pata induzido por carreginina e pelo modelo de constrição abdominal induzida por ácido acético. (CARTER, 1991) (MIRANDA *et al.* 2000)

Porém, o resultado encontrado nesta pesquisa foi conflitante com estes estudos já que os animais do grupo teste passaram menos tempo na placa que o grupo controle, indo contra também aos achados anteriores de que haveria uma provável atividade ansiolítica e depressiva nos componentes da planta. Uma possível explicação para este fato é que este foi o último experimento a ser realizado com os animais e talvez os princípios ativos das soluções de *H. succuba* não estivessem mais realizando seu efeito anti-inflamatório e analgésico.



## 8. CONCLUSÃO

Atividades depressoras, ansiolíticas e hipnóticas desta planta também foram encontradas neste trabalho, o que mostra há efeitos colaterais no uso desta planta, mas também que há espaço para extratos de *H. succuba* em outras áreas da medicina.

Porém, há a necessidade de mais estudos serem desenvolvidos para que estas atividades já encontradas sejam confirmadas e novas sejam identificadas. É preciso também que sejam pesquisados os possíveis efeitos adversos e contraindicações do uso crônico desta droga, antes que estudos clínicos sejam realizados.

## 9. CRONOGRAMA

Nº	Descrição	2012					2013						
		Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Pesquisa bibliográfica	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
2.	Treinamento da equipe	R	R	R	R								
3	Obtenção de drogas e animais					R	R	R					
4	Modelos de experimentação in vivo							R	R	R	R		
5	Análise de resultados									R	R	R	R
6	Elaboração do Resumo e Relatórios Parcial e Final					R	R	R				R	R
7	Preparação da Apresentação Final para o Congresso											R	R

R: Atividade realizada

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORSINI, F.; MELI, A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology*, 94: 147-160, 1988.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – Brasília, 01 de março de 2010 – Guia para a condução de estudos não clínicos de segurança necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br> Acesso em: 22/12/2012.

CARTER, R.B. Differentiating analgesic and non-analgesic drug activities on rat hot plate: effect of behavioral endpoint. *Pain*. Ed. 47. Páginas 211-220. 1991

CHORILLI, M. MICHELIN, D.C, SALGADO, H.R.N. Animais de laboratório: o camundongo. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, Vol. 28, No 1, 2007.

DE MIRANDA *et al.* Anti-inflammatory and analgesic activities of the latex containing triterpenes from *Himatanthus sucuba*. *Planta Med* 66: 284-286, 2000.

DE SOUZA, M.M. et al. Avaliação dos efeitos centrais dos fl orais de Bach em camundongos através de modelos farmacológicos específicos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. Ed. 16. Páginas: 365-371. 2006.

DINIZ, L. R. L *et al.* Effect of triterpene saponins from roots of *Ampelozizyphus amazonicus* Ducke on diuresis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 123, p. 275-279, 2009.

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.

LARROSA, C.R.R, Duarte MR. Contribuição ao estudo anatômico do caule de *Himatanthus succuba* (Spruce ex Müll. Arg.) Woodson, Apocynaceae. *Revista Brasileira de Farmacologia*. 15(2): 110-114, 2005.

LARROSA, C.R.R, Duarte MR. Morfoanatomia de folhas de *Himatanthus succuba* (Spruce) Woodson, Apocynaceae. *Lat Am J Pharm* 24: 165-171, 2005.

KARL, T.; PABST R.; VON HÖRSTEIN, S. Behavioral phenotyping of mice in pharmacological and toxicological research. *Exp Toxic Pathol*. Ed. 55. Páginas 69-83. 2003

KOSTER, R.; ANDERSON, M; DE BEER, E.J. Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.*, v.18, p. 412, 1959.

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.

MACHADO, B. B., DE SILVA, J. A., GONÇALVES, W. N.; PISTORI, H., DE SOUZA, A. S. Topolino: Software livre para automatização do experimento do campo aberto, XV Seminário de Computação, 19–28, 2006.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA Jr., V. F.; ECHEVARRIA, A.; GRZYMBERG, N. F.; Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares; *Quim. Nova*, 25, 429, 2002.

RODRIGUES, Eliana; DUARTE-ALMEIDA, Joaquim M. and PIRES, Júlia Movilla. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas: parte I. *Rev. bras. farmacogn.*, vol.20, n.6, 2010;

- SILVA, R.A.S.; REZENDE, C.M.; PINTO, A.C.; AMARAL, A.C.F.. Cytotoxicity and antibacterial studies of iridoids and phenolic compounds isolated from the latex of *Himatanthus sucuuba*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9(43), pp. 7357-7360, 25. 2010
- SIMON, P; DUPUIS, R.; COSTENTIN, J. Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behavioural Brain Research*. 1993.
- SOARES, D.C, *et al.* Leishmanicidal activity of *Himatanthus sucuuba* latex against *Leishmania amazonensis*. *Parasitol Int* 59: 173-177, 2010.
- VALADARES, M. C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após a “Era do teste DL50”; *Revista Eletrônica de Farmácia* Vol 3(2), 93-98, 2006.
- VEIGA-JUNIOR, V.F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. *Rev Bras Farmacogn* 18: 308-31. 2008.
- VIGO, C.L.S. *et al.* Avaliação dos efeitos das raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen sobre o tempo de sono e crescimento bacteriano. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2008
- WALTENBERGER, B *et al.* Phytochemical investigation of *Himatanthus sucuuba* bark leading to the identification of novel and anti-inflammatory compounds. *Planta Médica*.77-PG38. 2011.
- WOOD, C. A. *et al.* "A bioactive spiro lactone iridoid and triterpenoids from *Himatanthus sucuuba*." *Chem. Pharm. Bull.*; 49(11): 1477-1478, 2001.
- YAN, H.C. *et al.* Behavioral animal models of depression. *Neurosci Bull*. Ed.26. Páginas 327-337, 2010.