

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

DISSERTAÇÃO

AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DA
RAIZ DE *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers NO SISTEMA NERVOSO
CENTRAL

EVANDRO TOLEDO GERHARDT STUTZ

2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DA
RAIZ DE *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers NO SISTEMA NERVOSO
CENTRAL**

EVANDRO TOLEDO GERHARDT STUTZ

Sob a orientação do professor
Fabio Fagundes da Rocha

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, pelo Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração Ciências Clínicas.

Seropédica - RJ
Setembro de 2011

615.321

S937a

T

Stutz, Evandro Toledo Gerhardt,
1978-

Avaliação farmacológica do extrato etanólico da raiz de *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers no sistema nervoso central / Evandro Toledo Gerhardt Stutz - 2011.

35 f. : il.

Orientador: Fabio Fagundes da Rocha.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Bibliografia: f. 30-35.

1. Plantas medicinais - Teses.
2. Plantas medicinais - Uso terapêutico - Teses. 3. Farmacologia veterinária - Teses.
I. Rocha, Fabio Fagundes da,-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE VETERINÁRIA

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

EVANDRO TOLEDO GERHARDT STUTZ

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, pelo Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM ----/--/--

Fábio Fagundes da Rocha, UFRRJ.
(Orientador)

Elson Alves Costa, UFG

Frederico Argollo Vanderlinde, UFRRJ.

AGRADECIMENTOS

Obrigado meu Deus por permitir mais esta conquista em minha vida, por proporcionar-me a sabedoria necessária para lidar com os momentos inoportunos, de dúvidas, ou estresse. Agradeço por iluminar meus caminhos e nele ordenar teus anjos a me acompanhar, bem como as pessoas importantes às quais guiadas por Ti participaram a meu favor desta jornada. Amém.

Agradeço a minha esposa por estar incansavelmente ao meu lado, e desculpo-me pelas ausências ou por minha falta em decorrência da realização deste trabalho. Obrigado por sua paciência e tolerância nos momentos em que precisei. Amo-te.

Agradeço a minha família, especialmente meu pai e minha mãe, por me concederem com muito esforço e dedicação os pilares éticos, morais, religiosos e intelectuais que sustentam minha formação. Deus os abençoe.

Agradeço a professora Sylvia Eileen Cartes Cabezas pela confiança depositada em mim, pelos seus conselhos, carinho e compreensão. Você foi muito importante na realização desta minha conquista.

Agradeço ao meu orientador, Fábio Fagundes da Rocha, pela confiança em mim depositada, por proporcionar-me amadurecimento profissional e pessoal, e por sua amizade e orientação.

Obrigado professores, técnicos e outros amigos do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ, que direta ou indiretamente colaboraram de alguma forma com este trabalho.

Agradeço a colaboração do professor Elson Alves Costa, e a parceria da equipe do Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais da Universidade Federal de Goiás.

Agradeço todos os amigos que estiveram ao meu lado, aconselhando-me e ajudando-me durante toda a execução deste trabalho. Faço este especial para Cláudio da Silva Almeida, Daniel de Castro Trindade, Simone Pontes Xavier Salles e Amanda Silva Pimentel.

RESUMO

STUTZ, Evandro Toledo Gerhardt. Avaliação Farmacológica do Extrato Etanólico da Raiz de *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers no Sistema Nervoso Central. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Memora nodosa (Silva Manso) Miers, é uma espécie da família Bignoniaceae, conhecida popularmente como caroba amarela, carobinha do campo ou bambuzinho sendo encontrada no Bioma Cerrado de Goiás. Relatos populares indicam o uso das raízes na forma de chá para dores abdominais e na forma de banho para sarna. Pesquisas com o extrato etanólico das folhas e raízes, em ratos e camundongos sugerem que a planta não é potencialmente tóxica e possui ainda, atividade antinociceptiva envolvendo mecanismos centrais semelhante aos opióides e uma atividade anti-inflamatória, que pode envolver o bloqueio da síntese ou antagonismo de diferentes mediadores, tais como os eicosanóides. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do extrato Etanólico da Raiz de *M. nodosa* (EERMN) no Sistema Nervoso Central. Neste estudo, foram utilizados camundongos swiss, sendo o EERMN nas doses de 500, 1000 e 2000 mg/Kg, v.o., avaliado nos testes do Campo Aberto (CA), Roda Giratória (RG), Sono Induzido por Barbitúrico (SIB), Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e Natação Forçada (LCE). O tratamento com EERMN não foi capaz de alterar parâmetros avaliados nos testes do CA, RG, LCE e NF, reduzindo, no entanto a latência para indução do sono e aumentando o tempo de sono no SIB. Estes resultados sugerem ausência de ação ansiolítica, antidepressiva ou na atividade exploratória após tratamento agudo e uma ação hipno-sedativa do EERMN, não descartando, porém possíveis interações farmacocinéticas com o agente indutor do sono.

Palavras chave: *Memora nodosa*, plantas medicinais, atividade farmacológica.

ABSTRACT

Stutz, Evandro Toledo Gerhardt. Pharmacological evaluation of ethanolic extract of the root *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers in the central nervous system. Dissertation (Master in Veterinary Medicine). Institute of Veterinary Medicine, Agricultural Federal University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Memora nodosa (Silva Manso) Miers, is a species of the Bignoniaceae family, popularly known as yellow *Caroba*, field *carobinha*, *bambuzinho*, or being found in the Cerrado biome of Goiás. Reports indicate the use of popular roots in the form of tea to abdominal pain and in bath for scabies. Research with the ethanolic extract of the leaves and roots, in rats and mice suggest that the plant is not potentially toxic and has also antinociceptive activity involving central mechanisms similar to opioids and anti-inflammatory activity that may involve blocking the synthesis or antagonism of different mediators, such as eicosanóides. The objective of this study was to evaluate the effects of the ethanol extract of *M.nodosa* root (EERMN) in Central Nervous System. In this study, we used swiss mice, and the EERMN at doses of 500, 1000 and 2000 mg/kg, by oral administration, evaluated in Open-Field test (CA), Rota-rod test(RG), Barbiturates Induced Sleep (SIB), Elevated Plus-maze test (LCE) and forced swimming test (Behavioral despair) (NF). Treatment with EERMN was not able to change parameters evaluated in the testing of CA, RG, LCE and NF, reducing, however the latency for inducing sleep and increasing sleep time in the SIB. These results suggest the absence of action anxiolytic, antidepressive or exploratory activity after acute treatment and a hypnosedative action of EERMN, not discarding possible pharmacokinetic interactions with the sleep-inducing agent.

Keywords: *Memora nodosa*, medicinal plants, pharmacological activity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. Uso de plantas para fins terapêuticos.....	03
2.2. Segurança farmacológica.....	06
2.3. <i>Memora nodosa</i> (Silva Manso) Miers.....	09
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1. Material botânico.....	13
3.2. Preparação do extrato.....	13
3.3. Animais	13
3.4. Metodologia farmacológica.....	14
3.4.1. Avaliação da atividade exploratória.....	14
3.4.2. Avaliação da coordenação motora.....	14
3.4.3. Avaliação da ação hipno-sedativa.....	15
3.4.4. Avaliação do efeito ansiolítico.....	15
3.4.5. Avaliação da ação antidepressiva.....	16
3.5. Análise estatística.....	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
5. CONCLUSÕES.....	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. INTRODUÇÃO

As plantas são consideradas uma importante fonte de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para síntese de um grande número de fármacos. Praticamente todos os povos ou etnias do mundo usam plantas medicinais, ou seus derivados, de forma direta ou indireta para o tratamento de males que acometem o homem e/ou para atingir o estado de completo bem-estar físico, mental e social. Dentro deste contexto, no mercado mundial, cerca de 50% das plantas são usadas na alimentação, 25% em cosméticos, 20% pela indústria farmacêutica e 5% em outras atividades.

Considerando apenas estes objetivos terapêuticos estima-se que aproximadamente 25 a 30% dos medicamentos disponíveis no mercado são derivados de produtos naturais.

Apesar do grande aumento dos estudos nesta área, apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal e embora os produtos sintéticos desempenhem papel importante na terapêutica moderna, existem medicamentos derivados de produtos naturais, usados diariamente no tratamento de enfermidades, cuja síntese ainda não foi conseguida, a exemplo dos digitálicos, além disso, os vegetais, com frequência fornecem novos tipos de moléculas, ativas farmacologicamente, que são empregados no tratamento de enfermidades ou na síntese de outras moléculas de uso mais vantajoso. As plantas são substratos ideais para obtenção de medicamentos inovadores, pois são insumos acessíveis e naturalmente valorizados. Além disso, são renováveis na natureza, diferentemente das drogas sintéticas que são obtidas de matérias primas não renováveis como fontes fósseis e petroquímicas. No Brasil, estima-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, animais e microorganismos. Apresenta ainda, a maior diversidade genética vegetal do mundo, e desta forma, aumentando as oportunidades para a identificação de produtos derivados destas plantas com possível utilização econômica. O estudo fitoquímico da riqueza vegetal brasileira ainda pouco explorada torna-se um tema importante e decisivo para o Brasil, num futuro próximo, pelas possibilidades que oferecem para o desenvolvimento de novos medicamentos.

Memora nodosa (Silva Manso) Miers, é uma planta encontrada no Bioma Cerrado de Goiás sendo utilizada na medicina popular para tratamento de úlceras externas, feridas, dores

abdominais e para o tratamento de sarnas. Em um estudo recente, Bueno e Santos (2010) e Florentino *et al.* (2011) demonstraram que o extrato etanólico das raízes da *M.nodosa* (EERMN), possui atividade antinociceptiva envolvendo mecanismos centrais semelhante aos opióides e uma atividade anti-inflamatória, que pode envolver o bloqueio da síntese ou antagonismo de diferentes mediadores, tais como os eicosanóides. Apesar destes dados, outras ações da planta no Sistema Nervoso Central ainda não foram exploradas. Desta forma, o objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos do extrato etanólico das raízes de *M. nodosa* no Sistema Nervoso Central que possam justificar seu uso terapêutico ou garantir sua segurança farmacológica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Histórico do uso de plantas para fins terapêuticos

A Organização mundial da saúde denomina como planta medicinal todo vegetal que contenha em um ou mais de seus órgãos, substâncias que possam ser utilizadas para fins terapêuticos ou que possam ser empregadas como precursores de semi-sínteses químico-farmacêuticas (OLIVEIRA; AKISUE, 2009). Acredita-se que a utilização de plantas medicinais como medicamento seja provavelmente tão antiga quanto o próprio homem. Numerosas etapas marcaram a evolução da arte de curar, porém torna-se difícil delimitá-las com exatidão devido ao fato de que a medicina esteve por muito tempo associada a práticas mágicas, místicas e ritualísticas. Contudo, adquiriram fundamental importância na medicina popular (MARTINS *et al.*, 2000).

Há mais de sessenta mil anos já havia conhecimento sobre o uso de plantas medicinais, de acordo com descobertas arqueológicas no Irã (REZENDE; COCCO, 2002). A obra chinesa Pen Ts'ao (“A Grande Fitoterapia”), escrita em 2800 a.C. por Shen Nung, é a primeira referência escrita sobre o uso terapêutico de plantas (TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006). Teske e Trentini (2001) citam que a terapia pelas plantas (fitoterapia) já era conhecida pelas antigas civilizações, existindo relatos da utilização de vegetais como medicamentos a mais de 3000 anos. Nos papiros egípcios de 2000 a.C. há relatos do uso de plantas medicinais por médicos, enquanto no Papiro de Ebers, datado de aproximadamente 1500 a.C., há descrição de cerca de 700 diferentes drogas, incluindo extratos vegetais, metais pesados e venenos animais. Neste papiro há também o relato do cultivo de ervas medicinal pelos egípcios, assírios e hebreus, desde 2300 a.C.. Hipócrates (460–377 a.C.), em sua obra “*Corpus Hipocratium*”, descreveu conhecimentos médicos acerca de diferentes enfermidades, o tratamento adequado e o uso de plantas, bastante utilizadas na Grécia antiga (TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006).

No Brasil, o uso de plantas medicinais iniciou-se com as inúmeras tribos que aqui viviam aliados ao conhecimento trazido pelos europeus na época de colonização. Os escravos africanos também contribuíram com a cultura trazida da África sobre utilização de plantas. Estes conhecimentos foram transmitidos e aprimorados de geração em geração e tornaram-se

a base da tradição no uso de plantas medicinais no Brasil (LORENZI; MATOS, 2008). Os índios utilizavam a fitoterapia dentro de uma visão mística, em que o pajé ou feiticeiro da tribo fazia uso de plantas entorpecentes para sonhar com o espírito que lhe revelaria então a erva ou o procedimento a ser seguido para cura do enfermo e, também, pela observação de animais que procuravam determinadas plantas quando doentes. Um exemplo é a ipecacunha (*Cephaelis ipecacuanha*). O conhecimento desta planta surgiu da observação de um animal que procurava a sua raiz para se livrar de cólicas e diarreia, desta forma os índios começaram a usar a planta contra a disenteria amebiana, sendo hoje reconhecida pela farmacopéia. A influência africana é pouco conhecida, mas não menos relevante. Para os negros, quando alguém adoecia é porque estava possuído pelo espírito mau, e um curandeiro se encarregava, então, de expulsá-lo por meio de exorcismo e pelo uso de drogas, muitas vezes também de origem animal. A participação européia nesta história teve início com a vinda dos primeiros padres da companhia de Jesus, chefiados, por Nóbrega, em 1579. Formularam receitas chamadas “Boticas dos Colégios”, à base de plantas para o tratamento de doenças. A maior parte das ervas medicinais, é de origem européia e, embora não sendo nativa, grande parte delas reproduz espontaneamente e forma genótipos ou variedades distintas daquelas que vieram com os europeus durante a colonização. Essas influências que deixaram marcas profundas nas diferentes áreas de nossa cultura constituem a base da medicina popular que, há algum tempo vem sendo retomada pela medicina natural, que procura aproveitar suas práticas, dando-lhes caráter científico e integrando-as num conjunto de princípios que visam não apenas curar alguma doença, mas restituir o homem à vida natural (MARTINS *et al.*, 2000).

Depois da II Guerra Mundial houve difusão do uso fármacos sintéticos, o avanço dos antibióticos e da vacinação em massa, o que causou a ilusão de que a tecnologia moderna venceria a guerra contra a doença. Tais acontecimentos fizeram com que as terapias naturais perdessem o prestígio e a credibilidade (FARIA, 1998). Contudo, a partir da segunda metade dos anos 70 verificou-se aumento no interesse por “medicinas alternativas”, tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento como o Brasil (TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006). Nos últimos 20 anos, o interesse pelas plantas medicinais tem se elevado intensamente na sociedade ocidental, desde o uso dos produtos naturais como medicamentos pela população, até as investigações científicas sobre os efeitos biológicos destes fitoterápicos (PARENTE, 1998).

Atualmente, plantas medicinais como *Aloe Vera*, *Panax quinquefolius*, *Alium salivum*, *Gingko biloba*, *Serenoa repens* e *Valeriana officinalis* são cultivadas nos EUA e exportadas para a Europa e para o oriente. Na Alemanha, as condições que levam os consumidores a

usarem fitoterápicos incluem: resfriado comum (66%), gripe (38%), doenças digestivas e intestinais (25%), cefaléia (25%), insônia (25%), úlcera estomacal (34%), inquietação (21%), distúrbios circulatórios (15%), bronquite (15%), doenças de pele (15%), fadiga e exaustão (12%) (CALIXTO, 2000).

Particularmente em relação à utilização de plantas para o tratamento de doenças neuropsiquiátricas, com a corrente naturalista dos anos 90 e a comprovação dos efeitos terapêuticos de plantas, como o *Hypericum perforatum* (erva-de-São-João) no tratamento da depressão (BOMBARDELLI; MORAZZONI, 1995), da *Passiflora incarnata* (AKHONDZADEH *et al.*, 2001) e da *Valeriana officinalis* (HADLEY; PETRY, 2003) no tratamento da ansiedade, todas utilizadas como calmantes na medicina popular, novas perspectivas terapêuticas foram abertas, sendo a principal vantagem dos produtos derivados de plantas sobre os sintéticos, sua aceitação pelos pacientes, facilitando assim a adesão ao tratamento e dando a esses produtos competitividade no mercado farmacêutico (ASTIN, 1998).

Considerando ainda o mercado farmacêutico, o Brasil encontra-se entre os dez maiores consumidores de medicamentos do mundo. Só em 2002, 14,4 % dos medicamentos vendidos no Brasil foram destinados ao tratamento de doenças relativas ao SNC. No ano de 2000, nos EUA, a terceira classe de medicamentos mais vendida foi a de antidepressivos, movimentando 13,4 bilhões de dólares (IMS HEALTH, 2004).

Diante de todos estes aspectos apresentados, pode-se concluir a grande relevância do estudo de plantas medicinais não só para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, mas também para validação de seu uso junto à medicina popular.

2.2. Segurança farmacológica

A Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde, estima que 82% da população brasileira utilizem produtos à base de ervas, o que movimenta anualmente um bilhão em toda sua cadeia produtiva empregando mais de cem mil pessoas (ABIFISA, 2011). A expansão da fitoterapia pode ser atribuída a diversos fatores tais como: aos efeitos adversos de fármacos sintéticos, a preferência dos consumidores por tratamentos “naturais”, a validação científica das propriedades farmacológicas de espécies vegetais, o desenvolvimento de novos métodos analíticos colocados a disposição do controle de qualidade, o desenvolvimento de novas formas de preparações e administrações de produtos fitoterápicos, um melhor conhecimento químico, farmacológico e clínico das drogas vegetais e seus derivados, além de muitas vezes menor custo se comparado com os fármacos sintéticos (CAÑIGUERAL; DELLACASSA; BANDONI, 2003). Junto com essa expansão no arsenal terapêutico brasileiro, cresce também a preocupação com as condições que assegurem a qualidade dos produtos e insumos vegetais através de técnicas modernas e eficientes (SILVA, 1999).

A segurança e a eficácia dos produtos dependem de diversos fatores, dentre estes se podem destacar a qualidade do produto comercializado. A eficácia é dada pela comprovação, por meio de ensaios farmacológicos pré-clínicos e clínicos, dos efeitos biológicos preconizados para esses recursos terapêuticos, e a segurança é determinada pelos ensaios que comprovam a ausência de efeitos tóxicos (FARIAS, 2001).

No Brasil, além das plantas medicinais serem comercializadas em feiras livres e mercados públicos, nos últimos anos, elas têm sido componentes de produtos industrializados, que são comercializados com indicações terapêuticas, em estabelecimentos como farmácias, casas de produtos naturais e supermercados, como drogas vegetais ou/e fitoterápicos (CAÑIGUERAL; DELLACASSA; BANDONI, 2003). “Entende-se por droga vegetal, a planta medicinal ou suas partes, após processos de coleta, estabilização e secagem, podendo ser íntegra, rasurada, triturada ou pulverizada, e por fitoterápico, todo medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. Este último caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança são validadas através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações técnico-científicas em publicações ou ensaios clínicos” (BRASIL, 2004).

Um dos primeiros passos para garantir a qualidade destes produtos, é a validação dos métodos analíticos aplicados ao controle das matérias primas, produtos intermediários e produto final, a qual é inerente ao desenvolvimento e otimização do próprio método analítico (PETRY, 1999). A pesquisa com plantas e a produção de medicamentos originados a partir de plantas com atividade medicinal comprovada cientificamente envolve várias etapas desde a seleção da planta até a comercialização do produto final. A primeira etapa da validação de uma planta medicinal é um levantamento dos dados botânicos da espécie de planta a ser avaliada. Este levantamento inclui a identificação botânica e informações sobre seu uso popular (parte da planta a ser utilizada, forma de administração, dosagens, tempo de tratamento, dentre outros). A segunda etapa da validação envolve a realização de testes farmacológicos pré-clínicos e clínicos. Nesta última, são realizados testes que determinam a eficácia contra os agentes causadores da enfermidade a ser combatida e a segurança de administração para a espécie a ser tratada. A farmacologia clínica envolve testes monitorados na espécie alvo que possibilitam o registro da planta ou produto a ser utilizado. As três últimas etapas constituem o processo final de validação de planta medicinal, que envolvem um trabalho com as comunidades para que se torne possível o uso correto da planta medicinal. Estas são as etapas de transmissão de informações para que o produto final possa ser produzido ou consumido de forma correta (RATES, 2001).

A Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC/ANVISA-nº 48 (2004), institui os medicamentos fitoterápicos como medicamento farmacêutico obtido por processos tecnologicamente adequados, empregando-se exclusivamente matérias primas vegetais e caracterizado pelo conhecimento da eficácia, dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Também classifica grupos de produtos, para os quais exige critérios de registro diferenciados, sendo eles:

- Medicamento Fitoterápico Novo: aquele cuja eficácia, segurança e qualidade sejam comprovadas cientificamente quando do seu registro junto ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária.
- Medicamento Fitoterápico Tradicional: aquele elaborado a partir de planta medicinal de uso alicerçado na tradição popular, sem evidências conhecidas ou informadas de risco à saúde do usuário ou cuja eficácia e validade através de levantamentos etnofarmacológicos e de utilização, documentações tecnocientíficas ou publicações indexadas.
- Medicamento Fitoterápico Similar: aquele que contém as mesmas matérias-primas vegetais, na mesma concentração do princípio ativo ou marcadores, utilizando a mesma via de

administração, forma farmacêutica, posologia e indicação terapêutica de medicamento fitoterápico de referência.

Hoje em dia existem várias metodologias para a obtenção de fármacos, dentre elas a abordagem biotecnológica e as correspondentes técnicas genéticas, que possibilitaram identificar e preparar diversas proteínas; a química combinatória, que permitiu o desenvolvimento de técnicas de triagem em larga escala como o *HTS (High-throughput screening)* que permitem que até 100 mil compostos sejam testados num único dia em relação a sua atividade biológica e a química computacional que correlaciona à estrutura molecular com a atividade biológica (YUNES, CALIXTO, 2001), apesar disso para a confirmação da ação farmacológica e possível utilização terapêutica são necessários estudos *in vivo* de eficácia e toxicidade.

Quando analisamos o potencial terapêutico das plantas e sua possível utilização pela população, observamos que o uso popular e mesmo tradicional não são suficientes para validar as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros. A opção mais segura seria identificar e quantificar as substâncias ativas, o que nem sempre é possível devido ao grande número de componentes presentes no extrato. A utilização de substâncias marcadoras, relacionando a concentração das substâncias mais abundantes, ou de grupos químicos com a atividade biológica, é uma alternativa a ser avaliada. Portanto, até que se obtenha um método adequado que relacione composição química com atividade biológica, apenas o estudo farmacológico poderá garantir a eficácia e a uniformidade de um fitoterápico (SIMÕES *et al.*, 2010).

2.3. *Memora nodosa (Silva Manso) Miers*

A família Bignoniaceae apresenta cerca de 800 espécies, reunidas em 113 gêneros. Sua distribuição é pantropical, com maior número de espécies nos Neotrópicos e poucas espécies na zona temperada. O centro de diversidade da família está no Brasil, onde ocorrem 56 gêneros e cerca de 338 espécies, incluindo muitos táxons endêmicos. As espécies de Bignoniaceae são encontradas em diferentes tipos de ambientes, desde os cerrados abertos até as florestas úmidas e perenifólias, representando a principal família de lianas das matas brasileiras (GENTRY, 1980). Representantes desta família são particularmente frequentes no norte da América do Sul, com poucos gêneros ocorrendo na África, Madagascar e Ásia; somente dois gêneros ocorrem simultaneamente no Novo e Velho Mundo – *Campsis* e *Catalpa* (SCHNEIDER; LONDERO, 1965). No continente americano, no qual ocorre com

maior frequência, as espécies mais representativas são *Jacaranda brasiliana* (Pers), popularmente conhecida como jacarandá, *Tabebuia alba* (Cham) Sandw, ipê amarelo e *T. avellanadae* (Lorents ex Griseb), ipê roxo (LORENZI; MATOS, 2008). O uso na medicina popular é bem difundido para espécies dos gêneros *Jacaranda*, *Tabebuia*, *Zeyheria* (MACEDO; FERREIRA, 2004), *Anemopaegma*, *Pyrostegia*, *Crescentia*, *Dolichandra*, *Mansoa*, entre outras (LORENZI; MATOS, 2008). Vários estudos etnobotânicos, realizados no Brasil, relatam a utilização de espécies desta família no tratamento de problemas na pele (cicatrizante, depurativo, antiinflamatória) (AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007; SIQUEIRA, 1988; SILVA, 1998) o que pode sugerir atividade antimicrobiana, em especial para bactérias e fungos.

Memora nodosa (Silva Manso) Miers, uma espécie da família Bignoniaceae, é conhecida popularmente como caroba amarela, carobinha do campo ou bambuzinho (Figura 1). Folhas e caules dessa espécie são utilizados na medicina popular para tratamento de úlceras externas e feridas (SIQUEIRA, 1988), enquanto as raízes são usadas na forma de chá para dores abdominais ou externamente para sarnas (SILVA, 1998). Segundo Tresvenzol *et al.* (2010), *Memora nodosa* é uma planta do Cerrado que se propaga vigorosamente em áreas onde a vegetação nativa foi retirada, podendo tornar-se indesejada. Esta planta pode ser encontrada no Bioma Cerrado de Goiás de forma esparsa em meio à vegetação nativa preservada, às margens de rodovias, em terrenos baldios e em áreas desmatadas para prática agropecuária. Em seu habitat natural floresce de março a agosto, porém podendo ser encontrados exemplares floridos às margens das rodovias e terrenos baldios praticamente todo o ano. Morfologicamente, contribuem para a identificação de *M. nodosa*, a estrutura do caule, ereto ou trepador quando jovem e curvado e muito ramificado no terço superior quando adulto formando touceiras; o tamanho das folhas que contrasta com a relativamente pequena área foliar dos foliólulos, bem como, o conjunto de características das folhas e das flores. Em uma caracterização morfológica desta espécie, Tresvenzol *et al.* (2010), a descreve como um arbusto perene de 150 a 300 cm de altura com seus caules agrupados em touceiras, o que provavelmente justifica sua denominação popular “bambuzinho”. Descreve ainda neste trabalho as características de caule, folhas, flores, frutos e raiz desta espécie.

Tresvenzol (2005) realizou um estudo farmacognóstico de *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers com objetivo de contribuir para um banco de dados sobre a prospecção fitoquímica da planta. Foram pesquisados os seguintes grupos funcionais: alcalóides, flavonóides, taninos, heterosídeos saponínicos, antraquinonas e carboidratos. Desta forma, foi possível evidenciar a presença de óleo essencial, flavonóides, carboidratos e traços de

heterosídeos saponínicos nas folhas, flavonóides e traços de heterosídeos saponínicos nos caules e heterosídeos saponínicos e carboidrato na casca das raízes.

Os extratos etanólicos das folhas e das raízes e a fração hexano obtida das raízes de *M.nodosa* não apresentaram toxicidade para ratos, camundongos e *Artemia salina* (TRESVENZOL, 2008).

O extrato etanólico das raízes de *M. nodosa* mostrou fraca atividade antimicrobiana, enquanto as frações hexano e diclorometano das raízes mostraram ação antimicrobiana que variou de boa a moderada contra bactérias Gram-positivas e o fungo *Candida albicans* (TRESVENZOL *et al.*, 2009).

Soares *et al.* (2010) verificou que o extrato bruto das raízes apresentou atividade moderada contra *Amblyomma cajennense*.

Em um estudo recente, Florentino *et al.* (2011), demonstrou que o extrato etanólico das raízes da *M.nodosa* (EERMN), possui atividade antinociceptiva envolvendo mecanismos centrais semelhante aos opióides e uma atividade anti-inflamatória, que pode envolver o bloqueio da síntese ou antagonismo de diferentes mediadores, tais como os eicosanóides. Foi possível observar que na primeira fase (0-5 min.) do modelo de dor induzida pela formalina os tratamentos com EERMN nas doses (1000 e 2000 mg/kg) ou Morfina reduziram significativamente o tempo de reatividade a dor e que os tratamentos com o EERMN nas doses 500, 1000 e 2000 mg/kg diminuíram o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético (1,2%) em camundongos, de forma semelhante à indometacina 10 mg/kg usada como o controle positivo do teste. Porém, apesar de estes achados indicarem uma ação antinociceptiva dos extratos, esse efeito pode ser provocado por mecanismos não-específicos, não se podendo descartar uma possível ação neuroléptica, ansiolítica ou antidepressiva do extrato.



A



B

Figura 1 - Aspecto geral do arbusto e detalhes do caule da *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers. Figura 1A - Aspecto geral do arbusto, com caules reunidos em touceira. Figura 2A - Aspecto geral dos caules jovem, retos e não ramificados. Adaptado de Tresvenzol (2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material botânico

As raízes da *M.nodosa* foram coletadas no município de Senador Canedo - Goiás, previamente identificada pelo Prof. Dr. José Realino de Paula, uma exsicata foi depositada no herbário da Universidade Federal de Goiás sob número de registro 29981.

3.2. Preparação do extrato

As raízes foram dessecadas em estufa a 40°C e trituradas em moinho de facas, em seguida o extrato bruto das raízes foi obtido por maceração em etanol a 95%, seguido de concentração em rotaevaporador em temperatura de 40° C, segundo a metodologia adaptada de Ferri (1996). Este material foi fornecido pela Universidade Federal de Goiás. O extrato foi solubilizado em Tween 80 a 4 %, sendo esta solução usada como veículo. Para diluição, o Tween 80 foi separado em um volume de 4mL com auxílio de uma proveta de 100mL, completando seu volume com água destilada. Baseado em experimentos anteriores foram utilizadas as doses de 500, 1000 e 2000 mg/kg pela via oral.

3.3. Animais

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) albinos *swiss* machos pesando entre 25 e 30g fornecidos pelo Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e pela Universidade Federal de Goiás. Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) e iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas) com livre acesso à água e ração.

Os pré-tratamentos dos animais com o veículo (animais controle), extrato ou diferentes substâncias foram sempre em concentrações adequadas para a administração de um volume constante de 10mL/Kg. As administrações (via oral) foram realizadas 60 minutos antes dos testes de atividade farmacológica. Todos os protocolos experimentais foram realizados segundo os Princípios Internacionais para a Pesquisa Biomédica Envolvendo Animais para Estudos em Neurociências (Handbook for the Use of Animals in Neuroscience Research,

1997). Os testes do campo aberto, barra giratória, sono barbitúrico e labirinto em cruz elevado foram realizados e filmados no Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais da UFG, sendo os vídeos encaminhados para análise na UFRRJ.

3.4. Metodologia farmacológica:

3.4.1. Avaliação da atividade exploratória

3.4.1.1. Teste do Campo aberto

Um campo aberto circular, confeccionado em acrílico, com 30 centímetros de diâmetro por 15 cm de altura dividido em oito (08) partes de igual área, foi empregado para avaliar a atividade exploratória dos animais: sua movimentação espontânea (número de cruzamentos com as quatro patas entre as divisões do campo), na periferia (atividade exploratória) e no centro (atividade ansiolítica e sedativa) do campo aberto, o número de comportamentos de auto limpeza “*grooming*”, de levantar “*rearing*”, assim como tempo que permanece parado (imobilidade, indicando sedação ou medo) e a sua defecação, como índice de emocionalidade, registrados durante um período de cinco minutos, após o intervalo dos tratamentos. Foi adotado um n de 10 animais (ARCHER, 1973; SIELGEL, 1946).

3.4.2. Avaliação da coordenação motora

3.4.2.1. Teste da barra giratória

O aparelho é constituído de uma barra de 2,5cm de diâmetro subdividida em seis compartimentos, colocada a 25 cm de altura e girando a 12 r.p.m.. Os animais foram selecionados, 24 horas antes do teste, em sessões de dois minutos de duração, antes da administração do extrato/solução controle, sendo escolhidos aqueles que permaneceram na barra giratória durante esse período. Os animais selecionados receberam o tratamento no dia do teste, sendo colocado na barra giratória durante um minuto. Foi registrado o tempo de permanência na barra giratória (em segundos), com três reconduções, no máximo, à barra. Neste teste foi utilizado o diazepam com controle positivo na dose de 5 mg/kg (DUNHAM;

MIYA, 1957). Foi utilizado um n de 10 animais oriundos do teste do campo aberto para minimizar o número de animais.

3.4.3. Avaliação da ação hipno-sedativa:

3.4.3.1. Sono induzido por Barbitúrico

Grupos de camundongos adultos receberam os tratamentos antes da administração intraperitoneal de pentobarbital sódico (40mg/Kg). Foram cronometrados os tempos entre a perda e a recuperação do reflexo postural. Os resultados foram expressos como tempo de perda dos reflexos e de sua recuperação (em minutos) do sono de cada grupo. A latência para (tempo de indução do sono) e a duração da (tempo de recuperação) perda do reflexo postural (reflexo de endireitamento) dos animais, foram registrados até a recuperação dos animais à injeção do barbitúrico. Drogas depressoras do sistema nervoso central, em geral, reduzem a latência e aumentam a duração do sono induzido (CARLINI *et al.*, 1986). Foi utilizado um n de 10 animais, sendo estes os mesmos utilizados na barra giratória com o objetivo de minimizar o uso de animais.

3.4.4. Avaliação do efeito ansiolítico

3.4.4.1. Labirinto em cruz elevado (LCE)

O LCE é baseado no modelo proposto, em ratos, por Pellow *et al.* (1985) e validado por Lister (1990) para camundongos, e consiste de dois braços abertos opostos e dois fechados também opostos (30x05x25cm cada um), em forma de cruz grega. Os braços abertos e fechados estão conectados por uma plataforma central (05x05cm), sendo todo o aparelho confeccionado em acrílico opaco. O aparelho é elevado a uma altura de 45 cm do nível chão. As medidas comportamentais que podem ser observadas no LCE são: frequência de entrada e tempo despendido nos braços abertos e fechados. Podem ser também registradas medidas de avaliação etológica como o número de “*head-dipping*” (imersões de cabeça), “*rearing*” (levantar), que avaliam a atividade exploratória e as “*stretch attend postures*” (postura de estiramento), que avalia a atividade ansiolítica/ansio gênica. Estas são medidas de avaliação de risco, assim como o tempo de permanência na plataforma central (que se correlaciona com a

tomada de decisão) e o número de bolos fecais (emocionalidade). Um aumento seletivo nos parâmetros correspondentes aos braços abertos (entradas e tempo) revela um efeito ansiolítico, e o inverso é verdade. O número de entradas nos braços fechados avalia a atividade motora dos animais (PELLOW *et al.*, 1985). Neste teste foi utilizado o diazepam na dose de 1 mg/kg como controle positivo e um n experimental de 10 animais.

3.4.5. Avaliação da ação antidepressiva

3.4.5.1. Teste da natação forçada (NF)

Na avaliação da atividade do tipo antidepressiva, foi utilizado o teste da NF proposto por Porsolt, Bertin e Jalfre em 1977. O teste foi realizado em um cilindro plástico de 20 cm de altura e 10 cm de diâmetro contendo 15 cm de água, mantida a uma temperatura constante de 23 ± 2 °C. O animal foi submetido a uma sessão de 6 minutos de natação. Sendo registrado tempo de imobilidade durante 4 minutos finais à colocação dos animais na água, sendo os animais considerados imóveis quando permaneceram parados, realizando unicamente os movimentos necessários para manterem-se flutuando na superfície da água. A imipramina (30 mg/kg) via oral foi utilizada como controle positivo do teste e foi utilizado um n experimental de 10 animais.

3.5. Análise estatística

Os resultados estão expressos nas suas respectivas figuras como média \pm erro padrão da média, sendo submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Dunnett. No teste da barra giratória foi utilizada a análise não-paramétrica de Kruskal-Wallis seguida do teste de Dunn com auxílio do programa Graphpad Prism[®] versão 4.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o objetivo de avaliar possíveis ações do extrato etanólico das raízes de *M. nodosa* (EERMN) no Sistema Nervoso Central de camundongos, inicialmente foi realizada uma bateria de triagem de ação farmacológica composta por: teste do campo aberto, teste da barra giratória e teste do sono induzido por barbitúrico (ROCHA *et al.*, 2011). Com base em estudos anteriores, foram utilizadas doses que variaram de 500 a 2000 mg/Kg por via oral (BUENO; SANTOS, 2010) e (FLORENTINO *et al.*, 2011). O tratamento com o EERMN nas doses utilizadas não alterou significativamente os parâmetros analisados no campo aberto. O teste do campo aberto é um modelo bastante difundido para a triagem de novos fármacos com possível ação depressora ou estimulante do Sistema Nervoso Central (PARENTE *et al.*, 2009), sendo assim a arena é subdividida em espaços de mesma área e o cruzamento destes espaços é contado durante um período pré-definido (no presente trabalho por 5 min) avaliando a atividade locomotora geral do animal. Fármacos depressores centrais ou relaxantes musculares periféricos tendem a diminuir o número de espaços percorridos, enquanto fármacos estimulantes tendem a aumentar os espaços percorridos (ARCHER, 1973; SIELGEL, 1946). No caso do EERMN, conforme apresentado na figura 2A, não foram observadas alterações na atividade locomotora dos animais submetidos ao teste.

Considerando que a tendência natural de um animal em um ambiente novo é a de explorá-lo, apesar do conflito provocado pelo ambiente novo tem sido proposto que o campo aberto possa ser utilizado de forma mais ampla que a simples análise de atividade locomotora, indicando inclusive atividades mais específicas como a ansiolítica (ARCHER, 1973; SIELGEL, 1946). Pelo fato do teste se tratar de um modelo baseado na resposta inata do animal frente um ambiente novo, alguns parâmetros vêm sendo acrescentados enriquecendo a análise dos resultados deste modelo. Neste sentido, o número de levantamentos tem sido correlacionado à atividade exploratória (RYGULA *et al.*, 2005), e o tempo despendido na área central da arena tem sido inversamente correlacionado à ansiedade (RYGULA *et al.*, 2005). Outros parâmetros como o número e o tempo de autolimpeza podem ter significado ambíguo e sua interpretação deve ser realizada em conjunto com outros parâmetros, podendo tanto indicar aumento de ansiedade/medo como diminuição da mesma (RYGULA *et al.*, 2005), assim como o número de bolos fecais tem sido adotado como índice de emocionalidade apesar de tanto ser alterado por fármacos ansiolíticos e ansiogênicos quanto

por fármacos de ação local como espasmolíticos ou espasmogênicos (ARCHER, 1973; SIELGEL, 1946).

TESTE DO CAMPO ABERTO

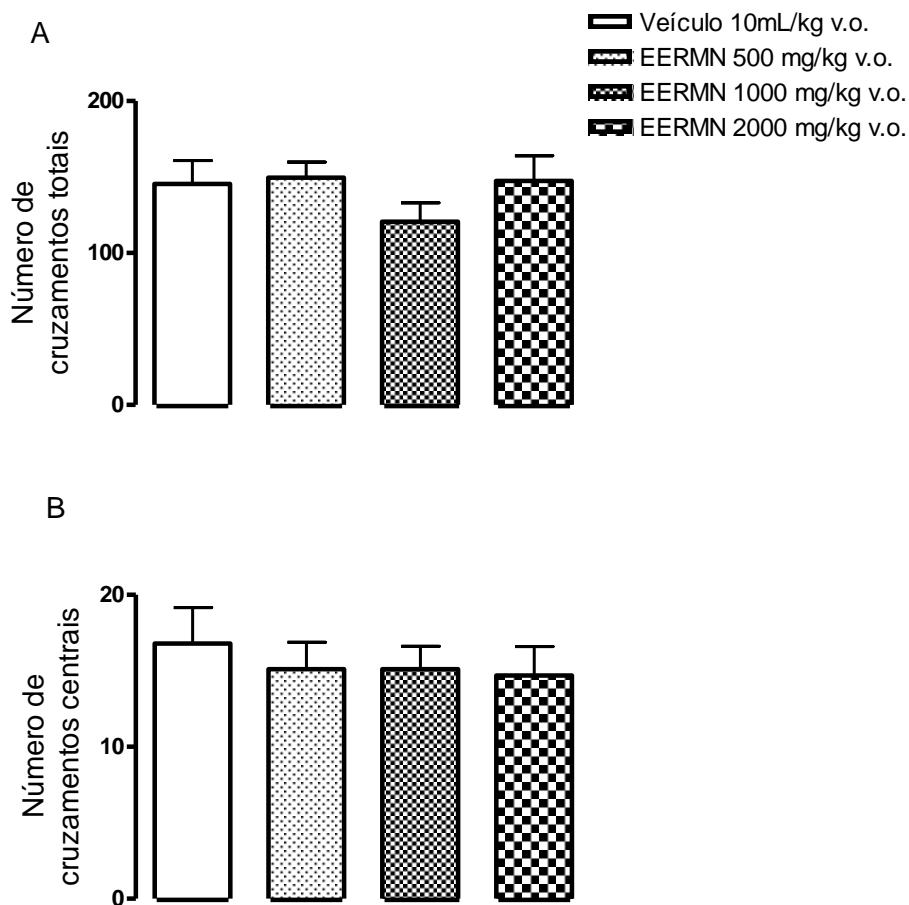


Figura 2. Avaliação da atividade exploratória (quadrados totais percorridos) (A) e da atividade ansiolítica ou sedativa (número de cruzamentos no quadrado central) (B) no teste do campo aberto após os tratamentos com veículo ou extrato das raízes de *Memora nodosa* (EERMN). As barras verticais representam as médias \pm erro padrão das médias com nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle (veículo). Foi utilizado um n de 10 animais.

Na análise estratificada dos espaços percorridos pelos animais não foram observadas diferenças significativas entre animais tratados com EERMN e o grupo controle não caracterizando ação ansiolítica neste modelo (Figura 3B) assim como os parâmetros: levantamentos, inatividade, autolimpezas e bolos fecais não foram alterados (Figuras 3A, 4 e 5). Desta forma, possíveis ações no Sistema Nervoso Central do EERMN não foram detectadas no teste do campo aberto.

TESTE DO CAMPO ABERTO

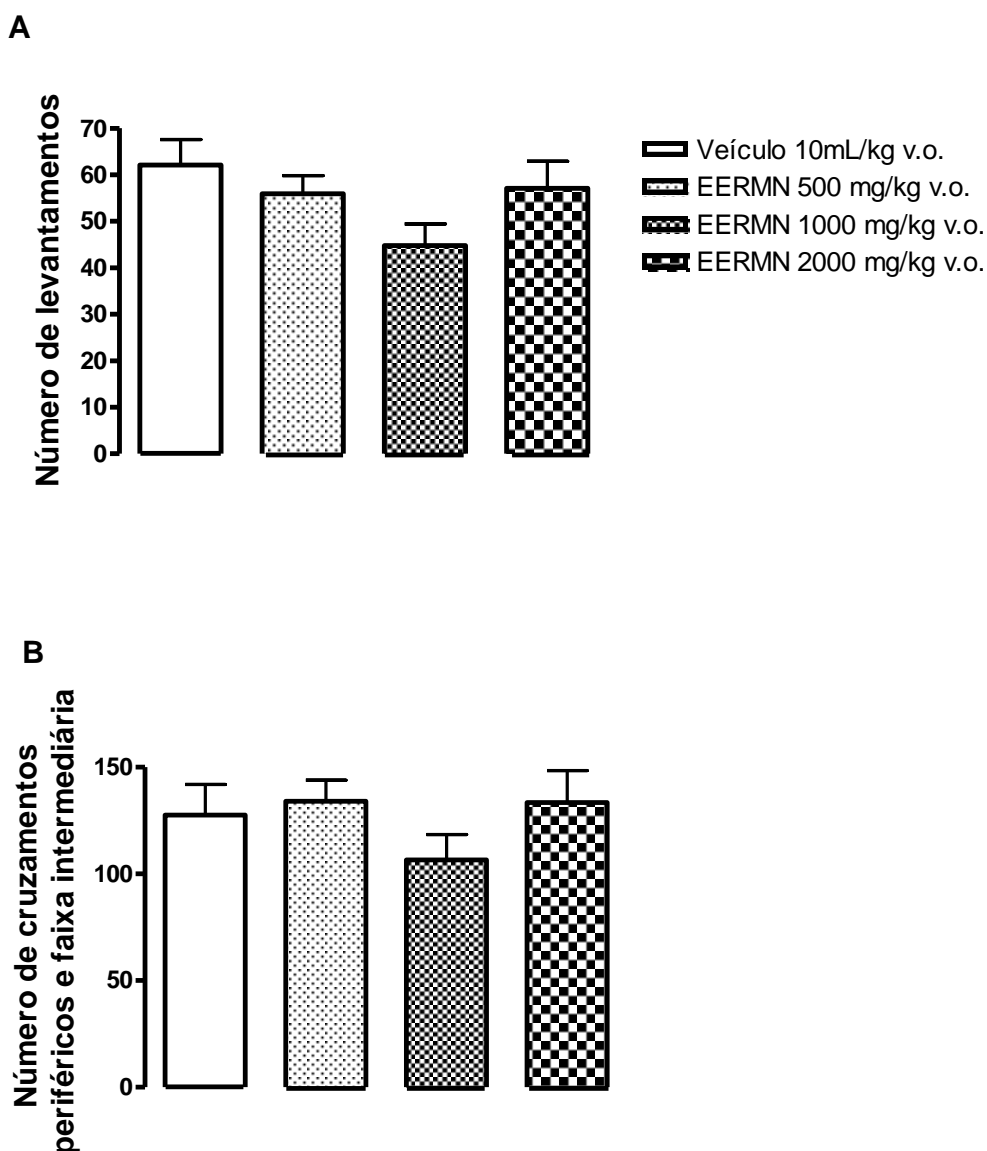


Figura 3. Avaliação da atividade exploratória (número de levantamentos) em (A) e (quadrados periféricos e intermediários percorridos) em (B) no teste do campo aberto após os tratamentos com veículo, extrato das raízes de *Memora nodosa* (EERMN). As barras verticais representam as médias \pm erro padrão das médias com nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle (veículo). Foi utilizado um n de 10 animais.

TESTE DO CAMPO ABERTO

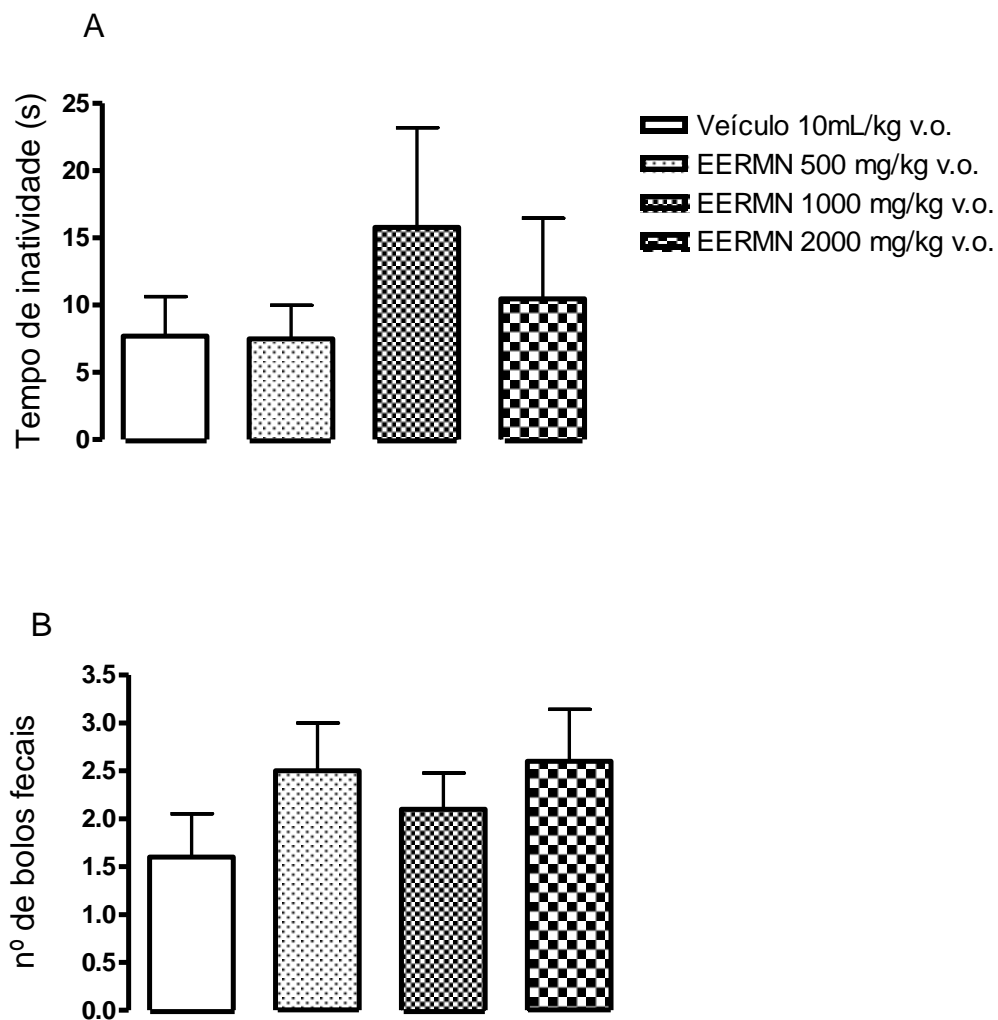


Figura 4. Avaliação da atividade ansiolítica ou sedativa (tempo de inatividade em segundos) em (A) e (número de bolos fecais) em (B) no teste do campo aberto após os tratamentos com veículo, extrato das raízes de *Memora nodosa* (EERMN). As barras verticais representam as médias \pm erro padrão das médias com nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle (veículo). Foi utilizado um n de 10 animais.

TESTE DO CAMPO ABERTO

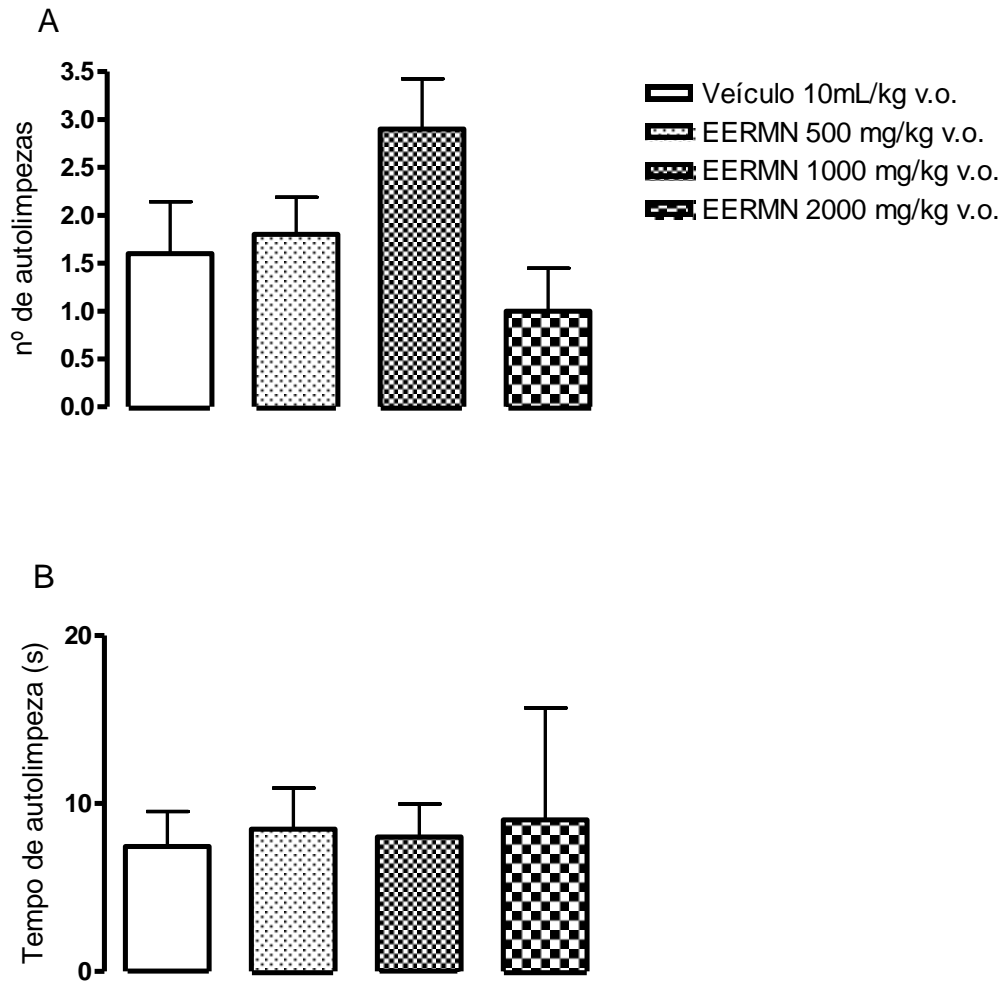


Figura 5. Avaliação da atividade ansiolítica ou sedativa (número de autolimpezas) em (A) e (tempo de autolimpezas em segundos) em (B) no teste do campo aberto após os tratamentos com veículo, extrato das raízes de *Memora nodosa* (EERMN). As barras verticais representam as médias \pm erro padrão das médias com nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle (veículo). Foi utilizado um n de 10 animais.

Durante a etapa preliminar de triagem foi realizado o teste da barra giratória que avalia a coordenação motora dos animais que pode ser alterada por sedação ou relaxamento muscular (DUNHAM; MYIA, 1957). Os tratamentos com EERMN nas doses (500, 1000 e 2000 mg/Kg) não foram capazes de alterar a coordenação motora dos animais, sendo que todos estes permaneceram na barra durante os 60 segundos de teste. Os números de quedas dos animais nos respectivos grupos estão expressos na figura 6. Estes resultados corroboram os anteriormente obtidos no teste do campo aberto.

TESTE DA BARRA GIRATÓRIA

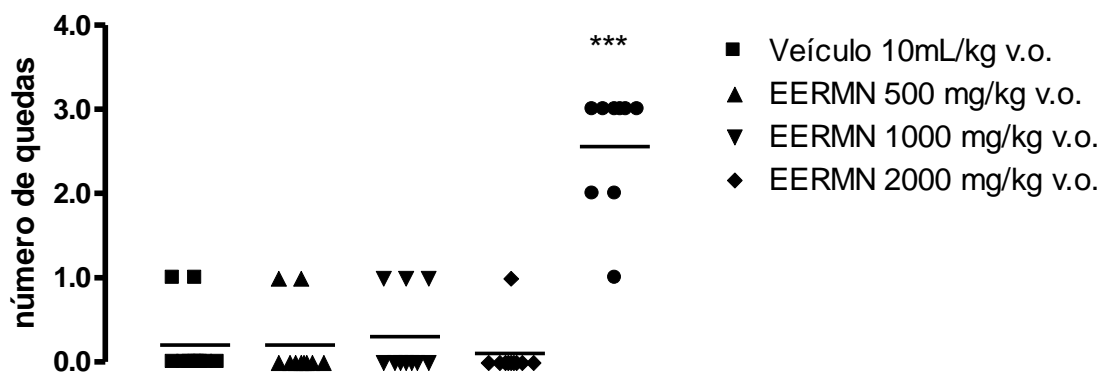


Figura 6. Avaliação da coordenação motora dos animais (número de quedas) no teste da barra giratória após os tratamentos com veículo, extrato das raízes de *Memora nodosa* (EERMN), ou controle positivo diazepam (●) 5,0 mg/Kg V.O.. Os pontos representam os valores individuais de cada animal e as barras horizontais a mediana com nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle (veículo). *** $p < 0,001$ (Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn). Foi utilizado um n de 10 animais.

A terceira etapa de triagem de ação farmacológica no Sistema Nervoso Central foi à avaliação da potencialização de sono induzido por pentobarbital. Os barbitúricos são potentes hipnóticos produtores de depressão dose dependentes no Sistema Nervoso Central. Incrementam a capacidade do receptor do ácido gama-aminobutírico (GABA A, subunidade α) induzindo aumento de duração da condutância ao íon cloreto em diferentes locais do Sistema Nervoso Central (modulação alostérica positiva aumentando a afinidade do GABA pelo receptor), causando hiperpolarização da membrana e, conseqüentemente, redução da atividade elétrica neste sistema (FANTONI *et al*, 1999).

O EERMN foi capaz de potencializar a indução do sono barbitúrico. Os animais tratados com EERMN na dose (2000 mg/Kg) tiveram diminuídos o tempo de latência do sono comparado com o grupo controle, e os tratamentos nas doses (1000 e 2000 mg/Kg) foram capazes de aumentar o tempo de recuperação do sono, sugerindo uma ação hipno-sedativa do extrato nas referidas doses, conforme expresso na figura 7.

Apesar de fármacos depressores do Sistema Nervoso Central, em geral reduzirem a latência e ou a duração do sono induzido (CARLINI *et al.*, 1986), fármacos metabolizados no fígado podem alterar estes parâmetros registrados como conseqüência de uma interação farmacocinética. Neste sentido, os compostos de derivados de plantas podem promover interações farmacocinéticas com os barbitúricos em função de sua interação com o complexo do citocromo P450, o que pode levar à potencialização dos efeitos depressores centrais e, conseqüentemente, a resultados falso-positivos de compostos desprovidos de ação hipno-sedativa. Para descartar tal possibilidade, usa-se um indutor de sono não metabolizado hepaticamente, como o éter etílico (CARLINI *et al.*, 1986). O sono induzido por éter etílico segue os mesmos princípios do sono barbitúrico, os mecanismos farmacodinâmicos de ambos os agentes são semelhantes, sendo ambos os efeitos de mediação via complexo receptor GABA A (VIEIRA, 2001). Outra possibilidade do ponto vista farmacocinético, seria a hepatotoxicidade do extrato, impedindo a metabolização do barbitúrico. Estas hipóteses estão sendo testadas.

Considerando os efeitos do EERMN nos testes do campo aberto, barra giratória e sono induzido por barbitúricos, observamos que os dois primeiros testes indicam ausência de ação no SNC, enquanto o último indica uma ação depressora do Sistema Nervoso Central. Apesar de inicialmente estes resultados parecerem paradoxais, apenas reforçam a necessidade da realização de vários testes na triagem de atividade farmacológica. Neste sentido, pode-se

observar que alguns fármacos apesar de efetivos clinicamente não são capazes de alterar os parâmetros do campo aberto como no caso dos antidepressivos e algumas classes de ansiolíticos, em função da sensibilidade aos efeitos de diferentes fármacos ansiolíticos e tipos de ansiedade. Desta forma, o EERMN foi adicionalmente avaliado nos testes do labirinto em cruz elevado (atividade ansiolítica) e da natação forçada (atividade antidepressiva), (PELLOW *et al.*, 1985; PORSOLT; BERTIN; JALFRE, 1977).

TESTE DO SONO INDUZIDO POR BARBITURICO

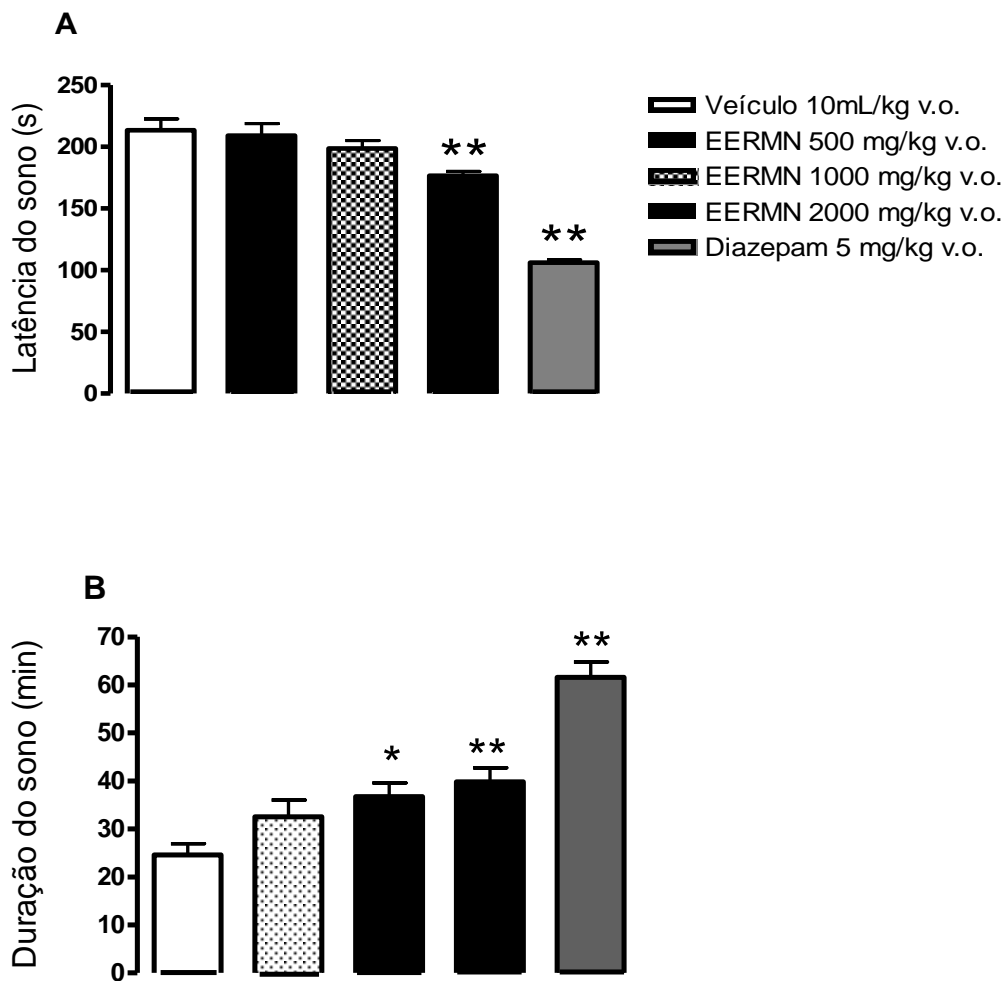


Figura 7. Avaliação da atividade hipno- sedativa (latência do sono) em (A) e (tempo de sono em minutos) em (B) no teste do sono induzido por pentobarbital sódico (50mg/Kg), administrado por via oral, após os tratamentos com veículo, extrato das raízes de *Memora nodosa* (EERMN), ou controle positivo diazepam. As barras verticais representam as médias \pm erro padrão das médias com nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle (veículo), onde (* $p < 0,05$) e (** $p < 0,01$). Foi utilizado um n de 10 animais.

A funcionalidade do Labirinto em Cruz Elevado como um modelo animal de ansiedade baseia-se na atividade exploratória espontânea e na aversão natural dos animais aos braços abertos do labirinto. O número de entradas e o tempo despendido nos braços abertos são utilizados como indicadores inversamente relacionados à ansiedade. Quanto mais intensa a exploração nos braços abertos, menor é a ansiedade do animal (PELLOW *et al.*, 1985).

Os resultados (figuras 8, 9 e 10) evidenciaram que os tratamentos com EERMN nas doses (500, 1000 e 2000 mg/Kg) não foram capazes de demonstrar efeito ansiolítico no Labirinto em Cruz Elevado, não apresentando diferenças estatísticas na frequência de entradas ou permanência nos braços abertos e fechado em relação ao grupo controle. Conforme relatado para o teste do Campo aberto, não foram observados efeitos ansiolíticos do extrato de *M.nodosa*, entretanto, vale ressaltar a existência de diferenças na sensibilidade aos efeitos de diferentes fármacos ansiolíticos e tipos de ansiedade, não podendo descartar totalmente um efeito ansiolítico do extrato. Também não foi possível observar diferenças nas medidas de comportamento etológico como mergulhos ou posturas de estiramento, corroborando para os resultados encontrados no Teste do Campo Aberto para estes parâmetros que avaliam atividade exploratória e ansiedade respectivamente.

Em relação à atividade do tipo antidepressiva foi realizado teste da natação forçada. Este teste baseia-se na observação de que camundongos forçados a nadar em ambiente restrito, sem possibilidade de fuga, adotam um comportamento característico, onde ocorre um período de alta atividade inicial seguido de um tempo de imobilidade relativamente constante, sendo esta imobilidade relacionada a um estado de “desistência” ("*behavioral despair*"), correlacionado à síndrome depressiva humana. Fármacos antidepressivos diminuem este tempo de imobilidade, constituindo este método um bom procedimento de triagem para novos fármacos antidepressivos (PORSOLT; BERTIN; JALFRE, 1977; WILLNER, 1984). Os antidepressivos, em geral, aumentam a latência para a imobilidade e reduzem o tempo de imobilidade apresentado pelos animais.

Os resultados evidenciaram que os tratamentos com EERMN nas doses (500, 1000 e 2000 mg/Kg) não foram capazes de demonstrar efeito antidepressivo no teste da natação forçada em comparação com o grupo controle. Por outro lado, o grupo controle positivo que recebeu antes do teste Imipramina (30mg/Kg) apresentou diferença em relação ao grupo controle (veículo) validando o teste (figura 11).

Apesar deste resultado a ação antidepressiva do extrato não pode ser totalmente descartada, visto que alguns fármacos apresentam esta ação apenas após tratamento crônico (PORSOLT; BERTIN; JALFRE, 1977).

TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

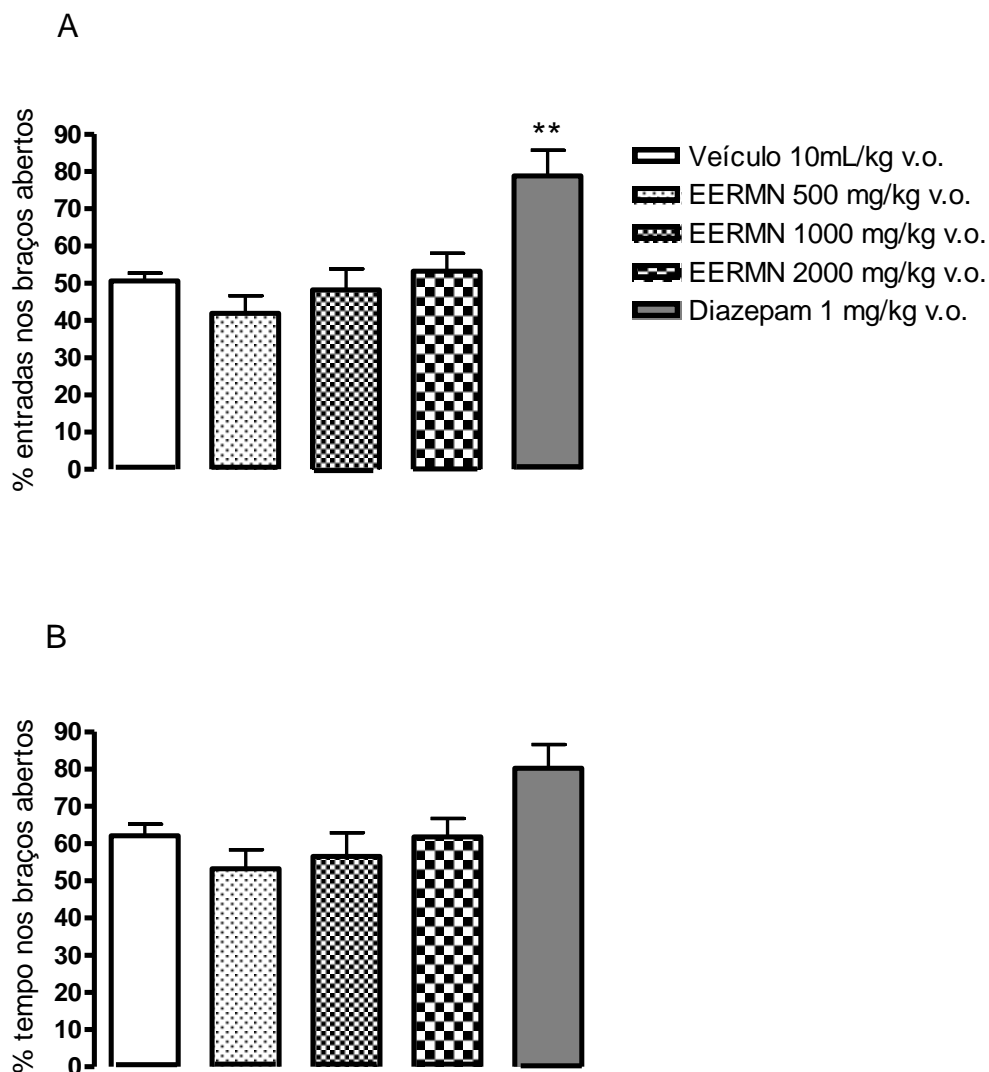


Figura 8. Avaliação da atividade ansiolítica ou sedativa (% de entradas nos braços abertos) em (A) e (% de tempo nos braços abertos) em (B) no teste do Labirinto em Cruz Elevado após os tratamentos com veículo, extrato das raízes de *Memora nodosa* (EERMN), ou controle positivo diazepam. As barras verticais representam as médias \pm erro padrão das médias com nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle (veículo), onde (** $p < 0,01$). Foi utilizado um n de 10 animais.

TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

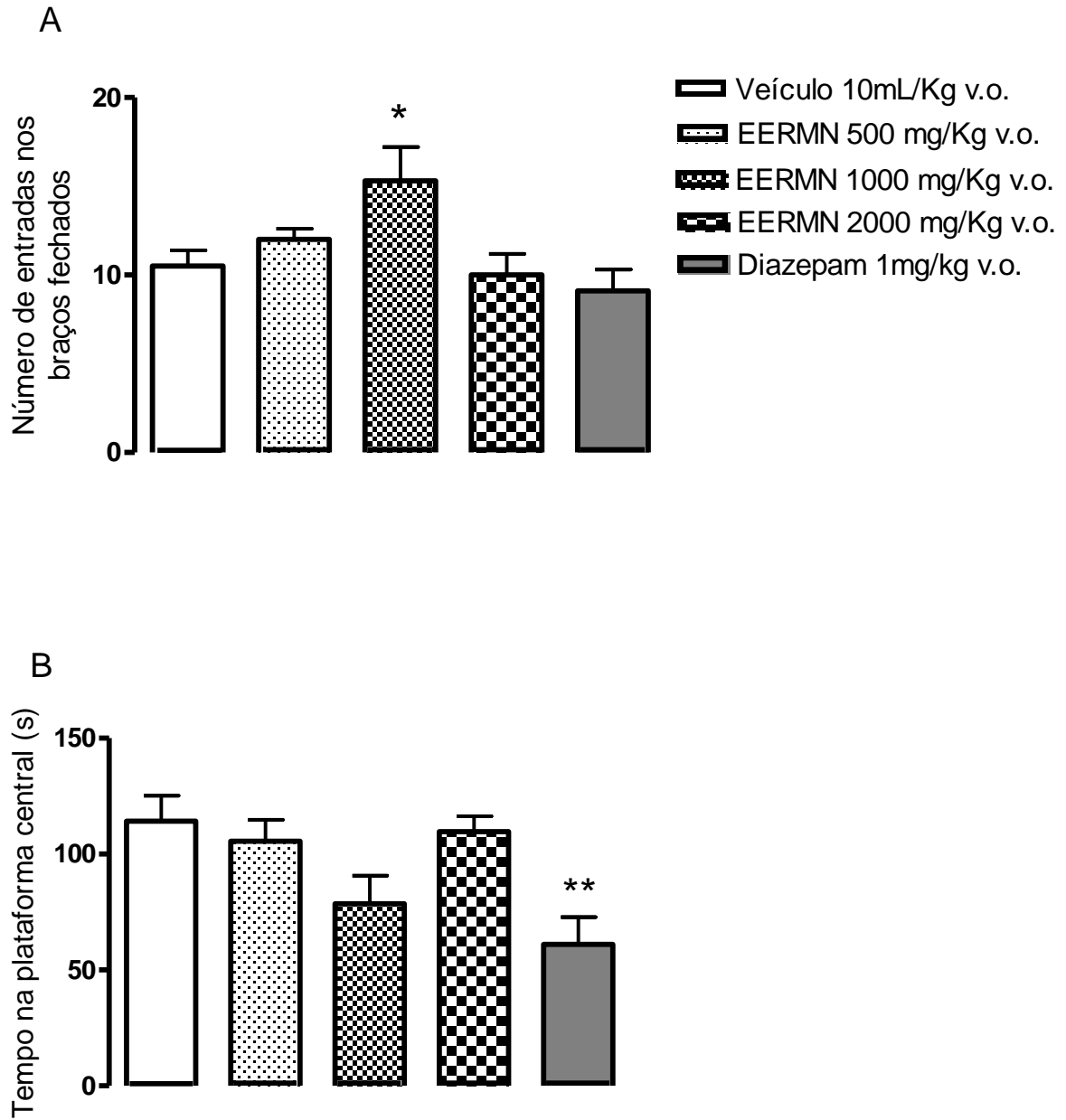


Figura 9. Avaliação da atividade motora (número de entradas nos braços fechados) no teste do Labirinto em Cruz Elevado após os tratamentos com veículo, extrato das raízes de *Memora nodosa* (EERMN), ou controle positivo diazepam. As barras verticais representam as médias \pm erro padrão das médias com nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle (veículo), onde (* $p < 0,05$) e (** $p < 0,01$). Foi utilizado um n de 10 animais.

TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

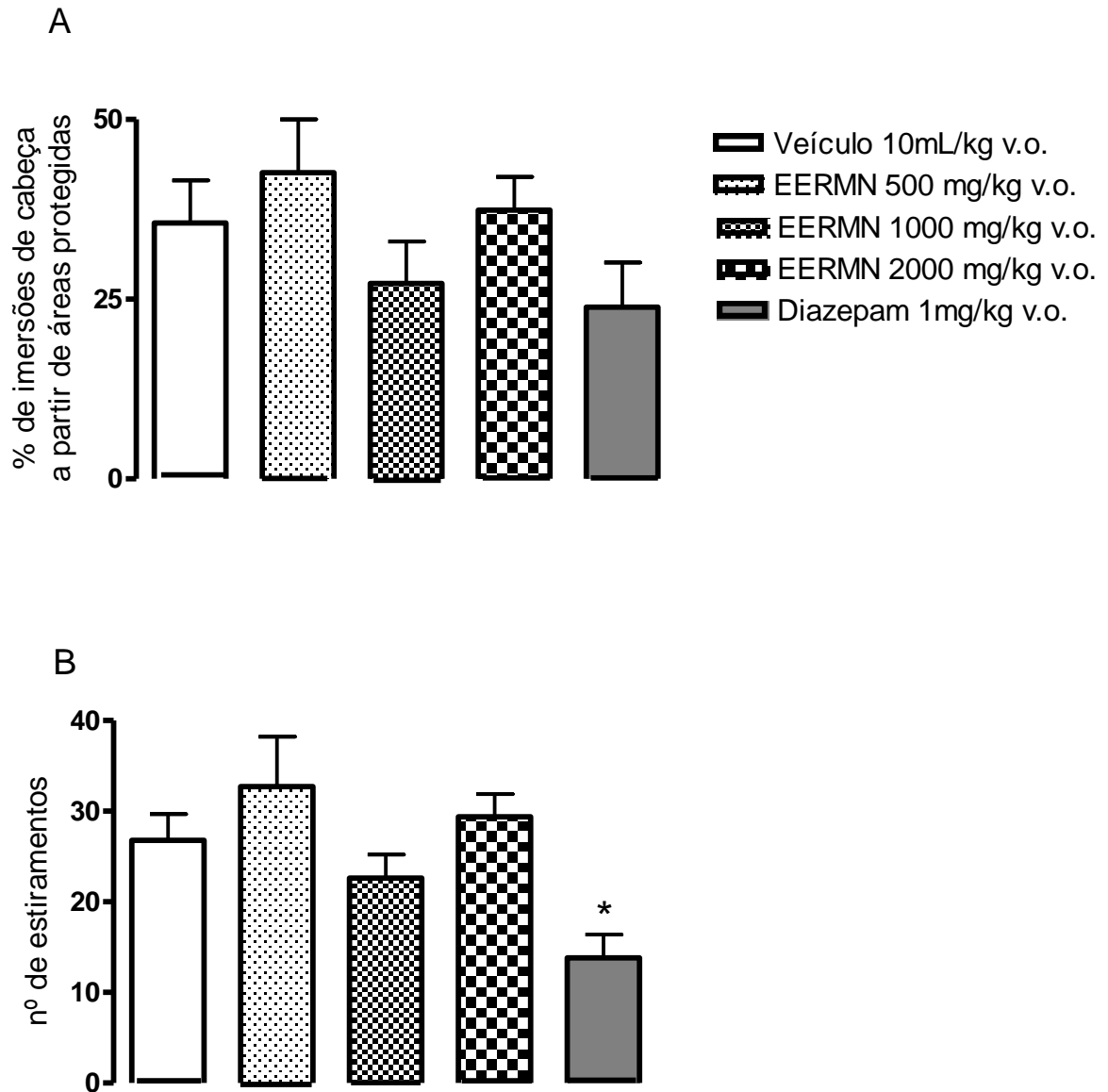


Figura 10. Avaliação da atividade exploratória (mergulhos nos braços abertos) em (A) e (mergulhos nos braços fechados) em (B) no teste do Labirinto em Cruz Elevado após os tratamentos com veículo, extrato das raízes de *Memora nodosa* (EERMN), ou controle positivo diazepam. As barras verticais representam as médias \pm erro padrão das médias com nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle (veículo), onde (* $p < 0,05$). Foi utilizado um n de 10 animais.

TESTE DA NATAÇÃO FORÇADA

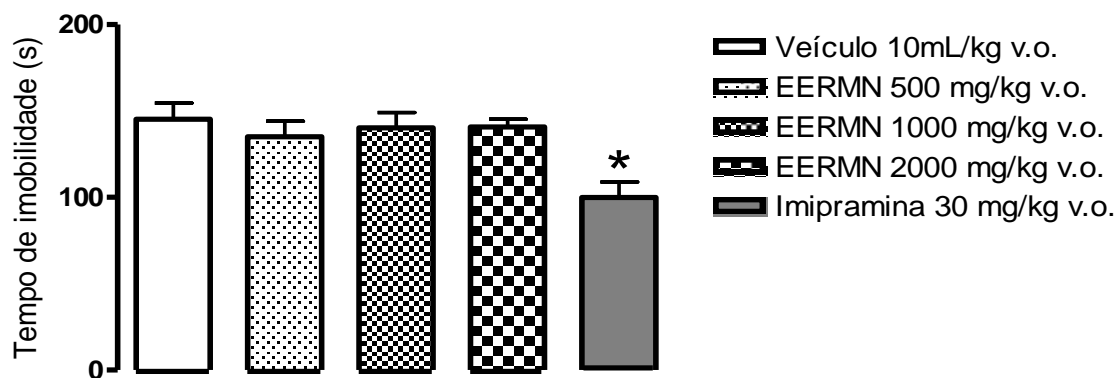


Figura 11. Avaliação da atividade antidepressiva (tempo de imobilidade em segundos) no teste da Natação Forçada após os tratamentos com veículo, extrato das raízes de *Memora nodosa* (EERMN), ou controle positivo Imipramina. As barras verticais representam as médias \pm erro padrão das médias com nível de significância das diferenças entre os grupos tratados e o controle (veículo), onde (* $p < 0,05$). Foi utilizado um n de 10 animais.

5. CONCLUSÕES

- O tratamento agudo por via oral com o Extrato Etanólico das Raízes de *M. nodosa* não apresentou influência na atividade exploratória e coordenação motora dos animais.
- Não foram evidenciados indicativos de ação ansiolítica do Extrato Etanólico das Raízes de *M. nodosa* após tratamento agudo por via oral.
- Não foram evidenciados indicativos de ação antidepressiva do Extrato Etanólico das Raízes de *M. nodosa* após tratamento agudo por via oral, não descartando possíveis efeitos crônicos.
- O tratamento agudo por via oral com o Extrato Etanólico das Raízes de *M. nodosa* apresentou atividade hipnótico-sedativa, não sendo descartadas no entanto interações farmacocinéticas com o agente indutor de sono.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIFISA - Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde. Disponível em: <<http://www.abifisa.org.br>>. Acesso em: 19 Set. 2011.

AGRA, M. F; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, F.M.. Synopsis of the plants know as medicinal and posionous in Northeast of Brazil., **Rev. Bras. Farmacogn.** v.17, n.1, p.114-140. 2007.

AKHONDZADEH, S.; NAGHAVI, H.R.; VAZIRIAN, M.; SHAYEGANPOUR, A.; RASHIDI, H.; KHANI, M. Passionflower in the treatment of generalized anxiety disorder: a pilot double-blind randomized controlled trial with oxazepam. **J Clin Pharm Ther.** 26: 363-7. 2001.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Anim. Behav.** v.21, n.2, p.205-235. 1973.

ASTIN, J. A. Why Patients Use Alternative Medicine: Results of a National Study. **Journal of the American Medical Association.** 279: 19 1549 – 53. 1998.

BOMBARDELLI, E.; MORAZZONI, P. *Hypericum perforatum*. **Fitoterapia.** 66(1):43-68. 1995.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) N° 48, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União de 18.03.2004.

BUENO, R.V.; SANTOS, R.R.S. Avaliação das atividades antioxidante e analgésica do extrato bruto e frações de *Memora nodosa* Silva Manso (Miers). Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia. 2010.

CAÑIGUERAL, S.; DELLACASSA, E. BANDONI, A.L. Plantas medicinales y fitoterapia: ¿Indicadores de dependencia o factores de desarrollo? *Acta Farmaceutica Bonaerense*, v. 22, n.3, p. 265-278. 2003.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz Med Biol Res*; 33 (2):179-89. 2000.

CARLINI, E.A.; CONTAR, J.D.P.; SILVA-FILHO, A.R.; SILVEIRAFILHO, N.G.; FROCHTENGARTEN, M.L.; BUENO, O.F. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf) I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. *J. Ethnopharmacol.*, v.17, n.1, p.37-64. 1986.

DUNHAM, N.W.; MIYA, T.S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rat and mice. *J. Am Pharm Assoc.* 46: 208-209. 1957.

FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G.; BERNARDI, M.M. Anestésicos intravenosos e outros parenterais. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 646p. 1999.

FARIA, A. P. C. O Uso de Plantas Medicinais em Juscimeira e Rondonópolis, Mato Grosso: Um Estudo Etnoecológico. Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação em Ciências Biológicas, do Instituto de Biociências, para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação da Biodiversidade, Cuiabá-MT. 1998.

FARIAS, M.R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. Pp. 197-220. In: SIMÕES, C.M.O.. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina. 2001.

FERRI, P.H. Química de produtos naturais: In: DI STASI, L. C. (Org). **Plantas Medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudos interdisciplinar. São Paulo: Ed. da Universidade Estadual Paulista, p.109-128, 1996.

FLORENTINO, I.F.; NASCIMENTO, M.V.M.; GALDINO, P.M.; PAULA, J.R.; TRESVENSOL, L.M.F.; COSTA, E.A. Analgesic and anti-inflammatory effects of ethanolic extract from *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers (Bignoniaceae) roots. **XXVI Reunião Anual da FeSBE**. ResumoID: 1133-1. 2011.

GENTRY, A. H. Bignoniaceae. Part I. Tribes Crescentieae and Tourrentieae. *Flora Neotropica*. 25(1): 1-130. 1980.

HADLEY, S.; PETRY, J.J. Valerian. **Am Fam Physician**. 67(8):1755-1758. 2003.

IMS HEALTH INCORPORATED. **Annual Report to Shareholders**. 2004.

LISTER, R.G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacol. Ther.** 46: 321-340, 1990.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estados da Flora, 2008.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. de; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas Medicinais**. Viçosa: Editora da UFV: Universidade Federal de Viçosa. 220 p. 2000.

MACEDO, M.; FERREIRA, A.R. Plantas medicinais usadas para tratamentos dermatológicos, em comunidades da Bacia do Alto Paraguai, Mato Grosso. **Rev. Bras. Farmacogn.** V. 14, p. 40-44. 2004.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de Farmacobotânica e de morfologia vegetal**. 3ed. São Paulo: Editora Atheneu. 2009.

PARENTE, C.E.T. Plantas usadas como medicinal no Município de Barra do Piraí. **Monografia**: apresentada para obtenção de Bacharelado em Ciências Biológicas do Instituto de Biologia da UFRuralRJ. 1998.

PARENTE, L.M.L.; COSTA, E.A.; MATOS, L.G.; DE PAULA, J.R.; CUNHA, L.C.; JÚNIOR, G.V.; SILVEIRA, N.A. *Calendula officinalis*: Efeito Depressor Central e Toxicidade Subaguda. **Lat. Am. J. Pharm.** 28 (6): 907-13. 2009.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S.; BRILEY, M.. Validation of open-closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neurosciences Methods**, 14: 149-167, 1985.

PETRY, R.D. Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas aplicadas à *Passiflora edulis* Sims. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em ciências Farmacêuticas da UFRGS. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). 1999.

PORSOLT, R.D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch Int Pharmacodyn Ther.** 229: 327-236. 1977.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v.39, p.603-13, 2001.

REZENDE H. A.; COCCO, M. I. M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Rev. Esc. Enferm.** USP, São Paulo, v.36, n.3, p.282-8, 2002.

RYGULA, R.; ABUMARIA, N.; FLÜGGE, G.; FUCHS, E.; RÜTHER, E.; HAVEMANN-REINECKE, U. Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress. **Behav. Brain Res.** 162 (1), 127e134. 2005.

ROCHA, F.F.; ALMEIDA, C.S.; DOS SANTOS, R.T.; SANTANA, S.A.; COSTA, E.A.; DE PAULA, J.R.; VANDERLINDE, F.A. Anxiolytic-like and sedative effects of *Hydrocotyle umbellata* extract in mice. **Brazilian Journal of Pharmacognosy.** 21(1): 115-120, Jan./Feb. 2011.

SCHNEIDER, E.P.M.; LONDERO, I.W.B. Flora ilustrada do Rio Grande do Sul. Fascículo VI - Bignoniaceae. **Boletim do Instituto de Ciências Naturais.** 25: 1-40. 1965.

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.

SILVA, S. R. **Plantas do cerrado utilizadas pelas comunidades de região do Grande Sertão Veredas**. Brasília: FUNATURA. 1998.

SILVA, W. Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica para a matéria prima e solução extrativa aquosa de partes aéreas de *Phyllanthus niruri* L. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em ciências Farmacêuticas da UFRGS. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). 1999.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL,E.P.; GOSMANN, G. ; MELLO, J. C. P.; MENTZ L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 1104p. 2010.

SIQUEIRA, J. C. **Plantas medicinais: identificação e uso das espécies do cerrado**. São Paulo: Ed. Loyola, 1988.

SOARES, S.F.; BORGES, L.M.F.; BRAGA, R.S.; FERREIRA, L.L.; LOULY, C.C.B.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R.; FERRI, P.H.. Repellent activity of plant-derived compounds against *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs. **Veterinary Parasitology** v.167, p. 67–73, 2010.

TESKE, M. TRENTINI, A. Herbarium Compêndio de Fitoterapia. Curitiba: **Herbarium**. 2001.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapeuta. **Texto contexto – enferm.**, Florianópolis, v.15, n.1, p. 115-21. 2006.

TRESVENZOL, L. M. F.; QUEIROZ, D.C.; REZENDE, R.C.; NASCIMENTO, T.L.; ROSA, V.S.; PAULA, J.R.. Estudo Farmacognóstico da *Memora nodosa* (Manso) Miers. **Rev.Eletr.Farm.**, suplemento v. 2, P. 221-3, 2005.

TRESVENZOL, L.M.F... Estudo morfoanatômico, avaliação da atividade biológica e composição química e variabilidade do óleo essencial da *Memora nodosa* (Silva Manso)

Miers – Bignoniaceae. **2008. 50 f. Tese (Doutorado em Biologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.**

TRESVENZOL, L.M.F.; FIUZA, T.S.; PIMENTA, F.C.; ZATA, D.T.; BARA, M.T.F.; FERRI, P.H.; LIMA, A.B.M; PAULA, J.R.. Composição Química do Óleo Essencial e Atividade Antimicrobiana da *Memora nodosa* (Bignoniaceae). **Lat. Am. J. Pharm.**, v. 28, (supl. 4), p. 513-19, 2009.

VIEIRA, R.A. Avaliação da possível atividade central da *Stachytarpheta cayenensis* (gervão-roxo). Florianópolis: Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina. **Dissertação de Mestrado**. 2001.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal moderna: métodos de estudo, fitoterápicos e fitofármacos, biotecnologia, patente**. Chapecó: Argos, 2001.

WILLNER, P. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*, v.83, p. 16, 1984.