

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

SCREENING PSICOFARMACOLÓGICO COM EXTRATO DA *Passiflora*
nítida Kunth EM CAMUNDONGOS: AVALIAÇÃO DO
COMPORTAMENTO GERAL, ATIVIDADE ANSIOLÍTICA E
ANTIDEPRESSIVA

Bolsista: Paulo Henrique Lira Matos, FAPEAM

MANAUS – AM
2014

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

RELATÓRIO FINAL
PIB-S/0117/2013
SCREENING PSICOFARMACOLÓGICO COM EXTRATO DA *Passiflora*
nítida Kunth EM CAMUNDONGOS: AVALIAÇÃO DO
COMPORTAMENTO GERAL, ATIVIDADE ANSIOLÍTICA E
ANTIDEPRESSIVA

Bolsista: Paulo Henrique Lira Matos, FAPEAM
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Geane Antiques Lourenço

MANAUS – AM
2014

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao Departamento de Ciências Farmacêuticas e aos seus autores.

Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida pelo Departamento de Ciências Farmacêuticas e se caracteriza como sub projeto do projeto de pesquisa Efeitos do tratamento com extratos vegetais oriundos da vegetação amazônica sobre o sistema Nervoso Central e no período Perinatal.

RESUMO

Introdução: A busca por alternativas para o tratamento de patologias do Sistema Nervoso Central tem feito crescer a terapêutica com plantas medicinais, visando novos medicamentos com menos efeitos colaterais. Com esse intuito para realização desse estudo foi escolhido o extrato das folhas da *Passiflora nítida Kunth* (maracujá-do-mato ou maracujá-suspiro). Em experimentos já realizados foi demonstrado que esse extrato produz um efeito de alteração comportamental aparentemente de origem central. Apesar de outras espécies do mesmo gênero apresentarem ação terapêutica comprovada, na atualidade não há estudos sobre a ação da *Passiflora nítida* sobre o SNC. **Objetivos:** Avaliar farmacologicamente os efeitos do extrato das folhas de *Passiflora nítida* sobre o sistema nervoso central. **Metodologia:** Foram utilizados camundongos machos Balb-c e Swiss pesando entre 30-40g. Os experimentos realizados foram: (1) Teste de Comportamento para Avaliação da ação sobre a Atividade Geral e da possível toxicidade do extrato da *Passiflora nítida Kunth* em camundongos submetidos a caixa de atividade; (2) Avaliação do efeito do extrato da *Passiflora nítida Kunth* sobre a ansiedade em teste de labirinto em cruz elevado; (3) Avaliação do efeito antidepressivo do extrato no modelo de teste de Nado forçado. **Resultados:** (1) Nos testes na caixa de atividade o comportamento exploratório demonstrou sinais de comprometimento com as doses utilizadas, indicando ação central do extrato; (2) No experimento do labirinto em cruz elevado o extrato da *Passiflora nítida* alterou o comportamento ansioso em ambas as doses, sendo mais eficiente na dose de 100mg/kg; (3) No modelo de teste de nado forçado o extrato alterou o comportamento depressivo nas concentrações de 50mg/kg e 100mg/kg. **Conclusão:** com base nos resultados obtidos concluímos que o extrato da *Passiflora nítida* tem efeito ansiolítico e antidepressivo de forma discreta, como apresentado por outros compostos fitoterápicos da mesma família vegetal.

Descritores: Psicofarmacologia, Sistema Nervoso Central, *Passiflora nítida Kunth*

ABSTRACTS

Introduction: The search for alternatives to the treatment of diseases of the central nervous system has made them grow herbal therapy, targeting new drugs with fewer side effects. With this intention to conduct this study was chosen extract of leaves of *Passiflora nítida Kunth*. In experiments it was demonstrated that this extract has the effect of behavioral change apparently of central origin. Although other species of the same genus present proven therapeutic action at present there are no studies on the action of *Passiflora nítida* on CNS.

Objectives: To evaluate the pharmacological effects of the extract of leaves of *Passiflora nítida* on the central nervous system.

Methodology: We used male mice Balb-c and Swiss weighing between 30-40g. The experiments were performed: (1) Behavior Test for Evaluation of the action on the General Activity and the possible toxicity of the extract of *Passiflora nítida Kunth* in mice subjected to open field test; (2) Evaluation of the effect of the extract of *Passiflora nítida Kunth* on anxiety in plus maze high cross test; (3) Evaluation of the antidepressant effect of the extract in the forced swim test model.

Results: (1) In tests in the open field exploratory behavior showed signs of commitment to the doses used, indicating the central action of the extract; (2) In the experiment of the elevated plus maze extract of *Passiflora nítida* changed the anxious behavior at both doses being more effective at a dose of 100mg/kg; (3) In the forced swimming test model extract altered the depressive behavior in concentrations of 50mg/kg and 100mg/kg.

Conclusion: Based on the results we conclude that the extract of *Passiflora nítida* have anxiolytic and antidepressant effect discretely, as shown by other herbal compounds of the same plant family

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Locomoção.....	16
FIGURA 2 – Levantar.....	16
FIGURA 3 – Limpeza.....	17
FIGURA 4 – Tempo de parada.....	17
FIGURA 5 – Tempo nos Braços Fechados.....	19
FIGURA 6 – Tempo nos Braços Abertos.....	19
FIGURA 7 – Entradas nos Braços Fechados.....	20
FIGURA 8 – Entradas nos Braços Abertos.....	20
FIGURA 9 – Número de estiramentos.....	20
FIGURA 10 – Tempo de latência.....	22
FIGURA 11 – Tempo de mobilidade.....	22
FIGURA 12 – Tempo de parada.....	22

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. OBJETIVOS.....	9
2.1. Objetivo Geral	
2.2. Objetivo Específico	
3. FUNDAMENTAÇÃO TERÓRICA.....	10
4. METODOLOGIA.....	13
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
6. CONCLUSÃO.....	24
7. REFERÊNCIAS.....	25

1. INTRODUÇÃO

As plantas constituem-se num enorme laboratório de síntese orgânica, fruto de milhões de anos de evolução e adaptação sobre a Terra. Nas últimas décadas esse manancial de moléculas distintas e complexas começou a se desvendar, devido à evolução dos métodos de análise e separação destes compostos. Historicamente, o desenvolvimento da química orgânica ocorreu paralelamente ao estudo de plantas, principalmente a partir do século XIX, quando foram registrados os primeiros estudos sobre plantas com bases científicas (Montanari e Bolzani, 2001).

Entre os diversos exemplos de substâncias oriundas de plantas e atualmente importantes para terapêutica pode-se mencionar a atropina, os digitálicos, a morfina, a codeína, a escopolamina, a reserpina, dentre outros; mais recentemente ainda temos a “forscolina” obtida de *Corleus barbatus*, que apresenta promissores efeitos contra hipertensão, glaucoma, asma e certos tumores (Valdés, et. al., 1987), a “artemisinina”, presente em *Artemisia annua*, que exerce potente atividade antimalárica (Salcedo, et. al., 1997), e o anticancerígeno “taxol”, isolado de plantas do gênero *Taxus*, que já se encontra disponível no mercado farmacêutico (Kingston, 1991).

Com relação às patologias referentes ao SNC, a terapêutica com plantas medicinais tem crescido nos últimos anos, com o intuito de desenvolver novos medicamentos com menos efeitos colaterais. Muitos são os exemplos de princípios ativos de plantas com ações centrais, porém a disponibilidade desses extratos em formulações comerciais ainda é um desafio e ser conquistado.

A descoberta de novas drogas com atividade no sistema nervoso central é uma atividade constante, seja para tratamento e estudo de desordens que ainda não estão bem definidas, ou

em substituição de fármacos que apresentam efeitos colaterais importantes por falta de seletividade de ação. Os modelos animais em neuropsicofarmacologia são utilizados basicamente para o estudo de fármacos ou da neurobiologia dos transtornos mentais. Em relação aos fármacos, podemos empregar esses modelos na pesquisa de novas drogas ou no estudo do mecanismo de ação de drogas na fisiopatologia das desordens psíquicas. Uma limitação dos modelos animais em psicofarmacologia é a característica subjetiva dos transtornos mentais, uma vez que os modelos animais se fundamentam na observação comportamental dos animais (Andreatini, et al., 2002). Embora essa limitação seja intransponível, os resultados experimentais com os modelos têm contribuído de forma significativa para o desenvolvimento da Neurociência. Outro ponto positivo é que os modelos animais permitem o estudo da contribuição de um determinado fator, dentre a gama que compõem as patologias neuropsíquicas, ou mesmo estudar a interação entre múltiplas variáveis. De maneira geral, esses modelos envolvem a exposição dos animais a um ou vários tipos de estímulos, observando e quantificando a expressão do comportamento (Yamamoto e Une, 2002). Na interpretação dos resultados experimentais e na sua extrapolação para a clínica deve-se considerar que não existem modelos animais ideais dos transtornos mentais (Guimarães, 1993). Na escolha do modelo a ser empregado deve-se levar em consideração o objetivo da utilização do modelo, pois é a partir deste objetivo que será considerada a sua aplicabilidade para determinado experimento. A confiabilidade (fidedignidade ou reprodutibilidade) avalia a consistência e estabilidade da variável de interesse obtida no modelo animal. Normalmente é avaliada pela (a) possibilidade de avaliação objetiva; (b) pequena variabilidade intrassujeito; (c) pequena variabilidade entre sujeitos; (d) reprodutibilidade sobre condições semelhantes; (e) reprodutibilidade dos efeitos das manipulações (Geyer; Markou, 1995).

Com base nessa pequena revisão de literatura, e de acordo com nosso conhecimento prévio, optamos por um "screening" farmacológico para avaliação da ação central do extrato a ser testado, utilizando o campo aberto (toxicidade, comportamento geral e ansiedade), labirinto em cruz elevado (ansiedade, atividade motora e aprendizado e memória), efeito sobre o desamparo aprendido (depressão) em teste de nado forçado. Todos estes modelos são amplamente utilizados em protocolos dessa natureza e seguem os preceitos de confiabilidade descritos por Geyer e Markou (1995).

O composto escolhido para o desenvolvimento desse projeto é o extrato das folhas da *Passiflora nítida Kunth* (maracujá-do-mato ou maracujá-suspiro), que em experimentos prévios (Carvalho, 2008), produziu um efeito de alteração comportamental aparentemente de origem central, dependente da dose. Porém na literatura constam apenas dados da atividade desse extrato sobre a agregação plaquetária e coagulação sanguínea (Carvalho, et. al., 2010).

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar farmacologicamente os efeitos do extrato das folhas da *Passiflora nítida* sobre o sistema nervoso central.

2.2. Específicos

2.2.1- Avaliar os efeitos da administração aguda de diferentes doses do extrato da *Passiflora nítida Kunth* sobre a atividade geral de camundongos, analisando possível toxicidade e ou alteração central no teste do campo aberto.

2.2.2- Avaliar os efeitos ansiolíticos do extrato da *Passiflora nítida Kunth* administrado agudamente em diferentes doses, em camundongos utilizando o teste do labirinto em cruz elevado.

2.2.3- Avaliar os efeitos antidepressivos do tratamento agudo em diferentes doses do extrato da *Passiflora nítida Kunth* em camundongos após tratamento agudo e prolongado em teste de natação forçada.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Modelos animais em Neuropsicofarmacologia - Os modelos animais em neuropsicofarmacologia são utilizados basicamente para o estudo de fármacos ou da neurobiologia dos transtornos mentais. Em relação aos fármacos, podemos empregar esses modelos na pesquisa de novas drogas ou no estudo do mecanismo de ação de drogas na fisiopatologia das desordens psíquicas.

3.1.1. Atividade Geral em Campo Aberto: O campo aberto é um aparelho adequado para avaliação da atividade geral (atividade motora e exploratória), do aprendizado e da memória, sendo esse amplamente difundido, principalmente para avaliação inicial de drogas ou substâncias tóxicas. Podemos também constatar uma ativação autonômica (aumento de secreção e defecação), ou alterações neuromusculares (alterações no caminhar), ou ainda ativação central (comportamento convulsivo ou estereotipado). Através da análise e quantificação do repertório comportamental normal do roedor pode-se avaliar tanto a capacidade motora quanto a emocionalidade do mesmo.

3.1.2. Teste do Labirinto em Cruz Elevado: Este modelo baseia-se no conhecimento de que roedores evitam locais abertos e elevados. O camundongo explora ambos os braços, abertos e fechados, mas tipicamente entrará com maior frequência e permanecerá por mais tempo nos

braços fechados. Os animais submetidos ao labirinto exibem comportamento de medo ou defensivo, análogos a manifestações ansiosas em indivíduos com transtornos de ansiedade (Graeff e Guimarães, 1999).

3.1.3. Teste do Nado forçado: O teste do nado forçado é um dos estudos mais utilizados para avaliar o potencial antidepressivo de novos compostos. Nesse experimento o animal é submetido inicialmente a um treinamento, sem administração de qualquer solução, onde é colocado em um recipiente transparente com água, em uma quantidade que não o permite que toque o fundo do recipiente, e de forma que não seja possível escapar, por um período de 15 minutos. Diante dessas circunstâncias os animais são forçados a nadar. No período inicial os animais apresentam uma intensa mobilidade e tentativas de tentar escapar, após esse momento começa a se desenvolver um estado de imobilidade, em que se observa que os animais realizam apenas movimentos necessários para manter a cabeça fora d'água. Assim, as intensas tentativas de escape refletem um estado de desespero, já a condição de imobilidade um estado considerado uma medida de “depressão”. Vinte e quatro horas após o treinamento, os animais recebem solução salina (controles) e o composto a ser testado (experimentais), e uma hora após a administração passam novamente pelo mesmo processo, com a diferença de que permanecem no recipiente com água apenas 5 minutos, durante este tempo é registrado o tempo de mobilidade e imobilidade, além do tempo de latência, ou seja, o tempo em que o animal leva para entrar no estado de imobilidade. Assim, espera-se que os animais que receberam o composto em teste permaneçam por mais tempo no estado de mobilidade, sinalizando um possível efeito antidepressivo, e que os controles apresentem maior tempo no estado depressivo (imobilidade). Este teste tem o objetivo de avaliar o efeito antidepressivo do extrato da *Passiflora nítida Kunth* sobre o sistema nervoso central.

3.2. *Passiflora nítida Kunth* - Várias espécies do gênero *Passiflora*, denominadas popularmente como maracujá, são empregadas extensivamente na medicina popular em muitos países, em diversas formas farmacêuticas. Entre os fitocomponentes das espécies de *Passiflora* estão os flavonóides, glicosídeos, alcalóides e fenólicos. Flavonóides, cumarinas e taninos, são as substâncias ativas majoritárias neste extrato e, conforme descrito na literatura, são compostos ativos em nível central. Os flavonóides são compostos de origem vegetais muito estudados e que demonstram efeitos antimicrobiano, antiviral, antiulcerogênico, antineoplásico, antioxidante, antihepatotóxico, antihipertensivo, hipolipidêmico, antiinflamatório, antiplaquetário (Machado, et. al., 2008). Como antioxidantes, são compostos de extrema utilidade na terapêutica de patologias como Mal de Parkinson, Doença de Alzheimer, dentre outras. A *Passiflora nítida* é uma herbácea com folhas de superfície coriácea e cresce espontaneamente em vegetação secundária, beira de rios e estradas e seus frutos são consumidos *in natura* pela população local da Região Amazônica (Hopkins e Souza, 1999). Não existem estudos sobre a ação dessa espécie vegetal sobre o sistema nervoso central, porém outras espécies do mesmo gênero são amplamente utilizadas com comprovado efeito ansiolítico, sedativo, antiinflamatório, antinociceptivo, antihipertensivo (Di Strasi, et. al., 2002; Dhawan e Sharma, 2002, 2003). Como exemplo pode-se citar a *Passiflora incarnata*, que atua ao nível da medula espinhal, provavelmente por interação com receptores das endorfinas naturais, diminuindo os estímulos externos que chegam ao SNC. É utilizada eficazmente em crise de ansiedade, insônia e hiperexcitabilidade nervosa induzindo a um sono próximo do fisiológico, sem causar a depressão psíquica e a lentidão dos reflexos, comuns aos hipnóticos e tranquilizantes (Dhawam, et. al., 2004).

4. METODOLOGIA

4.1- Sujeitos Experimentais

Foram utilizados camundongos machos Balb-c e Swiss pesando entre 30-40g. Os animais experimentais foram mantidos em condições padronizadas no Biotério Central do Instituto de Ciências Biológicas - UFAM. O trabalho foi realizado observando-se os Princípios Éticos na Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA (1991). Antes do início dos experimentos o projeto foi submetido ao CEUA-UFAM sendo aprovado com número de certificado 106/2012/CEUA/UFAM (em anexo).

4.2- O extrato

O extrato da *Passiflora nítida* utilizado na pesquisa foi fornecido pelo Dr Emerson Silva Lima, que já havia realizado estudos com este, tendo extensa competência na área de fitoterápicos, além disso, participou como colaborador e consultor desse projeto. Sendo assim, os pesquisadores envolvidos diretamente no desenvolvimento desse projetos não participaram da produção do extrato, sendo este produzido e fornecido pela equipe do Dr. Emerson. Em experimentos anteriores com a *Passiflora nítida* foram utilizados extratos aquoso, etanólico e hexânico, mas o extrato hora disponível foi o hidroalcólico. As folhas de *Passiflora nítida* foram coletadas na Reserva Duque e as mesmas foram submetidas a processo de moagem e extração dos princípios ativos por eluição com álcool etílico e água. A solução resultante foi liofilizada e o extrato seco foi utilizado para os experimentos. A diluição do extrato em solução salina 0,9% havia sido usada em experimento piloto para determinação das doses, e mostrou ser adequada propiciando uma solução homogênea, sem grumos proteicos, material

em suspensão ou sedimentado. Em projeto prévio realizado pelo grupo do Dr Emerson, testes de toxicidade foram efetuados em roedores, e baseados nestes resultados e no projeto piloto realizado por nós, determinamos as doses que poderiam ser efetivas sem causar efeitos tóxicos.

4.3- Testes de Comportamento para Avaliação da ação sobre a Atividade Geral e da possível toxidade do extrato da *Passiflora nítida Kunth* em camundongos submetidos ao campo aberto.

Atividade Geral em Campo Aberto: Para o experimento foram utilizados camundongos machos Balb-c pesando entre 30 e 35g. Foram separados e escolhidos aleatoriamente 30 camundongos, sendo pesados e numerados. Desse grupo 8 foram controles e os outros 22 experimentais. Aos controles foi administrado via oral (gavagem) a solução salina em quantidade correspondente ao peso. Os experimentais foram separados em três grupo de acordo com a concentração de extrato da *Passiflora nítida Kunth*, dessa forma o grupo 1 (6 animais) recebeu a concentração de 50mg/kg o grupo 2 (6 animais) a de 100mg/kg e o grupo 3 (10 animais) de 150mg/kg. Uma hora após a administração os animais foram colocados individualmente no campo aberto, e observados por 5min, para quantificação dos resultados (unidades de locomoção e levantar, tempo de parado e tempo de limpeza).

4.4- Avaliação do efeito do extrato da *Passiflora nítida Kunth* sobre a ansiedade em teste de labirinto em cruz elevado

Teste do Labirinto em Cruz Elevado: Para este teste foram utilizados 24 camundongos machos Swiss pesando entre 30g e 40g, destes 8 foram controles, aos quais foi administrada solução salina, e os outros 16 experimentais que foram separados em dois grupos, o grupo 1 recebeu a dose de 150mg/kg e o grupo 2 a dose de 100mg/kg do extrato. A solução salina

(controles) e as doses do extrato (experimentais) foram administradas via oral (gavagem) na quantidade correspondente ao peso do animal. Uma hora após a administração da solução salina e do extrato da *Passiflora nítida Kunth* os camundongos foram colocados individualmente no centro de um labirinto em cruz elevado modificado, contendo dois braços abertos (28,5 x 7 cm) opostos a dois braços fechados (28,5 x 14 cm). Cada animal permaneceu no labirinto por 5 minutos, e foram registrados o número de entradas e o tempo de permanência em cada um dos braços do aparelho (braços fechados ou braços abertos). O comportamento de colocar a cabeça em um dos braços sem entrar no mesmo é chamado de “neck’s in” ou estiramento, que auxilia ao pesquisador quantificar a ansiedade do animal. O nível de ansiedade de cada animal foi avaliado por meio da quantificação da porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos do aparelho, e a atividade motora avaliada por meio de número total de entradas nos braços do aparelho.

4.5- Avaliação do efeito antidepressivo do extrato no modelo de teste de Nado forçado

Teste do Nado forçado: Neste teste foram utilizados 36 camundongos machos Swiss adultos pesando entre 30g e 40g, sendo separados em quatro grupos, os quais passaram pelo treinamento vinte e quatro horas antes do experimento. Os animais do grupo 1 (10 animais) foram controles, aos quais foi administrado via oral (gavagem) a solução salina em quantidade correspondente ao peso. Os grupos 2, 3 e 4 foram experimentais. O grupo 2 (7 animais) a dose de 50mg/kg do extrato (gavagem). O grupo 3 (12 animais), recebeu a dose de 100mg/kg do extrato por gavagem. Ao grupo 4 (7 animais) foi administrado a dose de 150mg do extrato via oral (gavagem). Uma hora após a administração das soluções os animais foram colocados individualmente no recipiente com água por cinco minutos, durante este período foi registrado o tempo de latência para a ocorrência de imobilidade, o tempo total de imobilidade e de mobilidade.

4.6- Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando-se primeiramente o teste de Bartlet para determinação da distribuição paramétrica ou não paramétrica. Por esta análise os dados considerados com distribuição paramétrica foram analisados utilizando o teste ANOVA seguido do teste de Tukey Kramer. O intervalo de confiança aceitável foi de 5% ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- Testes de Comportamento para Avaliação da ação sobre a Atividade Geral e da possível toxicidade do extrato da *Passiflora nítida Kunth* em camundongos submetidos ao campo aberto.

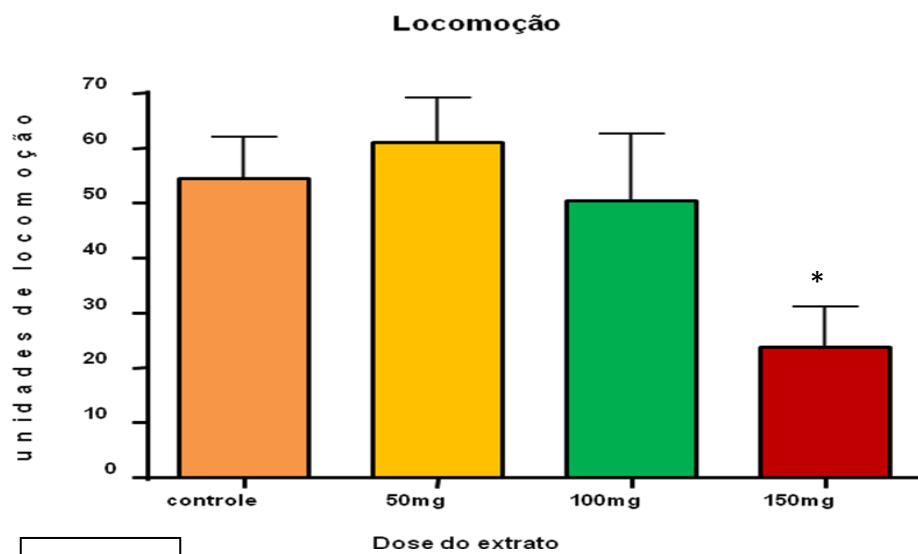


FIGURA 1

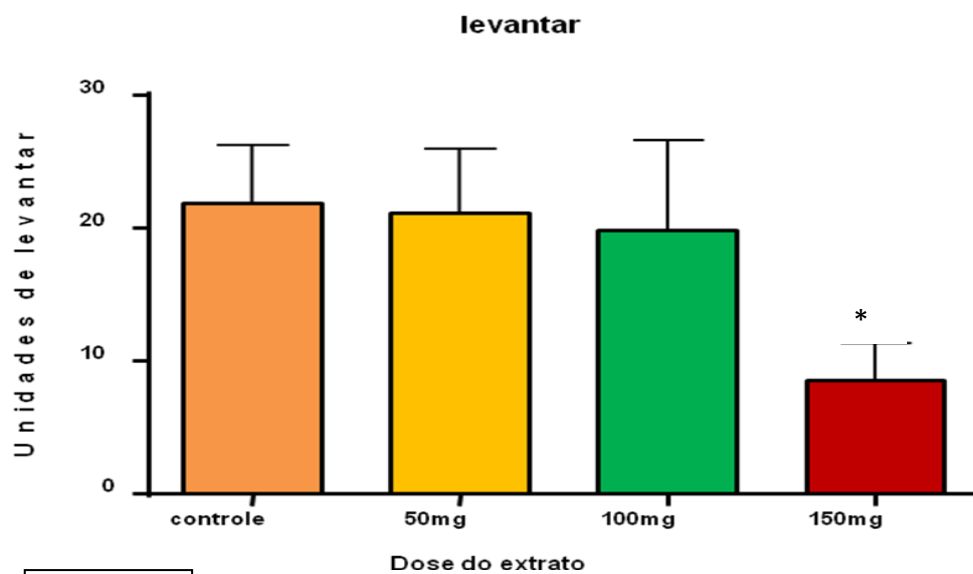


FIGURA 2

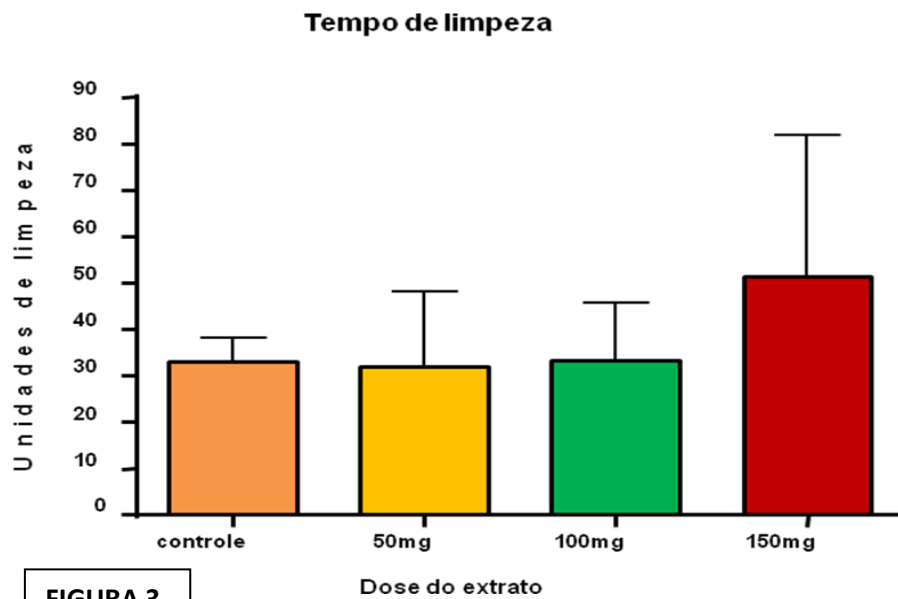


FIGURA 3

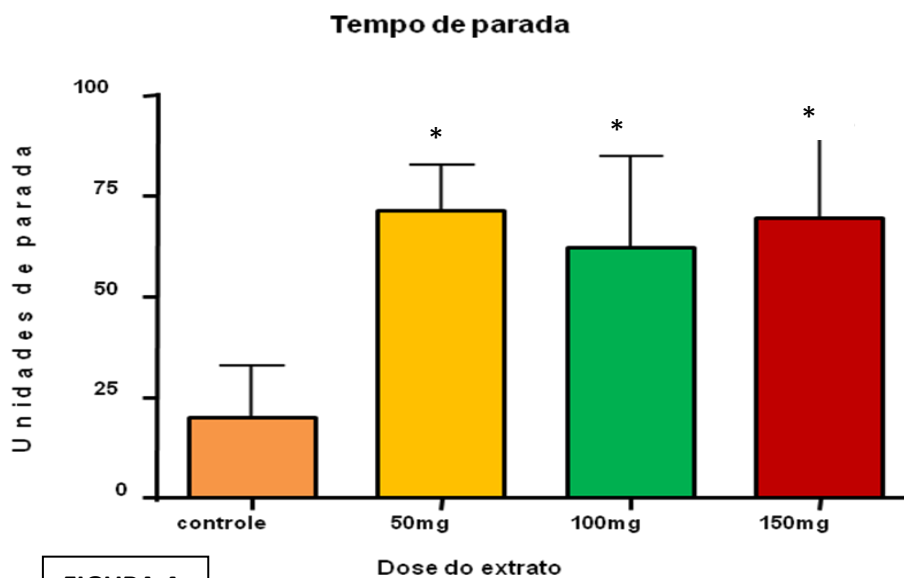


FIGURA 4

- **FIGURAS 1 a 4:** Nas figuras 1 e 2 temos a atividade geral dos animais evidenciada em unidades de locomoção e de levantar, respectivamente. Nas figuras 3 e 4 os dados representam o tempo em segundos que os animais permaneceram em limpeza ou parados, respectivamente. Os dados se referem à média ± erro padrão da média

* $p < 0,05$ em relação ao grupo controle. ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer

O extrato da *Passiflora nítida* alterou o comportamento dos animais nas doses de 100mg/kg e 150mg/kg, diminuindo a atividade geral nos parâmetros locomoção e levantar, além de

umentar o tempo em que o animal permanece parado na arena. De forma geral o comportamento exploratório fica comprometido com essas doses, indicando ação central do mesmo, uma vez que o tônus muscular permanece íntegro (verificado através do teste de permanência na barra). Esses dados corroboram os achados da literatura sobre este gênero vegetal *Passiflora*, onde encontramos evidências do efeito “calmante” e indutor do sono destes compostos. A exploração de um novo ambiente em roedores gera medo do novo, que se traduz em comportamento ansioso. Quanto mais exploração, mais ansioso o animal se encontra. O extrato hidroetanólico de *Passiflora nítida* produziu efeito ansiolítico uma vez que diminuiu o comportamento exploratório dos animais.

5.2 - Avaliação do efeito do extrato da *Passiflora nítida* Kunth sobre a ansiedade em teste de labirinto em cruz elevado

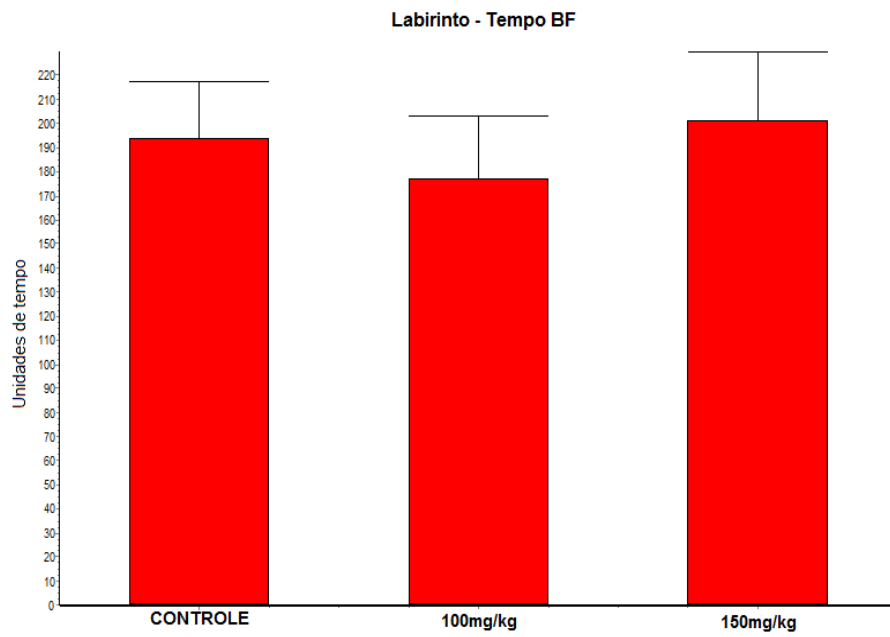


FIGURA 5

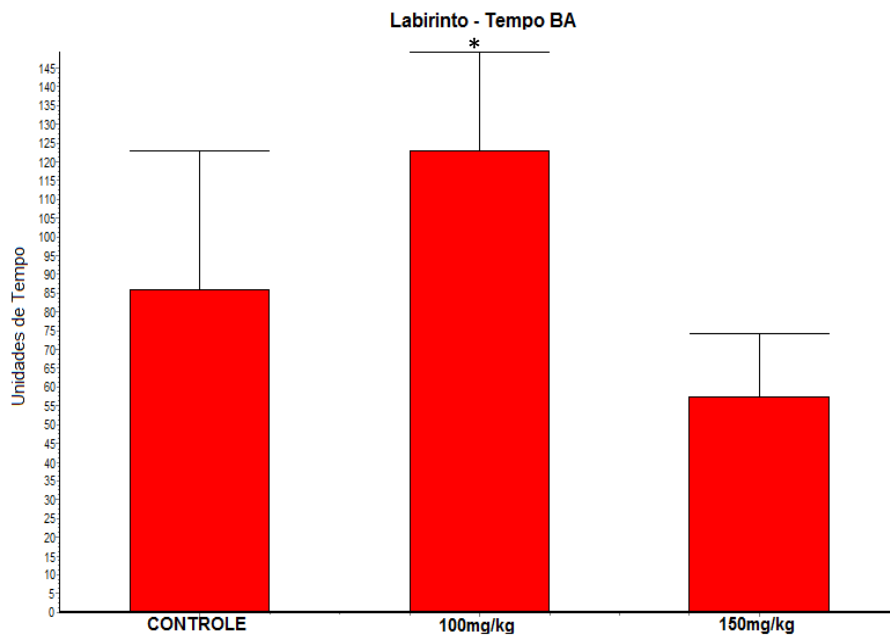


FIGURA 6

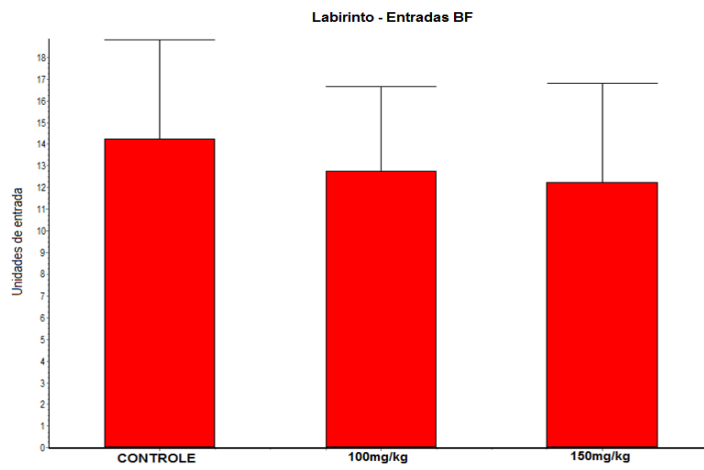


FIGURA 7

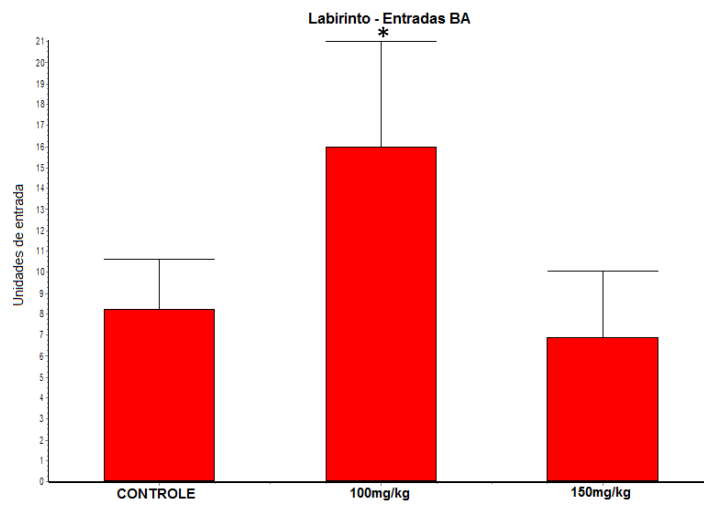


FIGURA 8

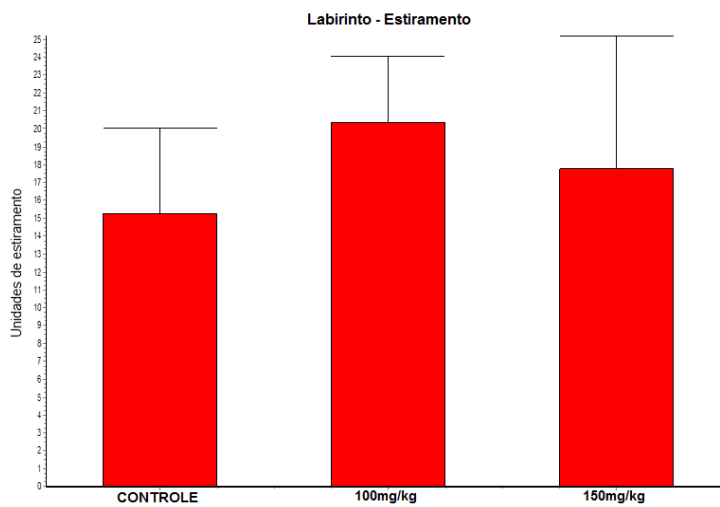


FIGURA 9

- **FIGURAS 5 a 9:** Representam os dados obtidos em 5 min de submissão dos animais ao labirinto em cruz elevado, uma hora após os diferentes tratamentos. Nas figura 5 e 6 temos o tempo total em segundos de permanência dos camundongos nos braços fechados e abertos, respectivamente. Nas figuras 7, 8 e 9 os dados representam o número de entradas nos braços fechados, o número de entradas nos braços abertos e o número de “neck’s in” (estiramento), respectivamente.
- Os dados se referem à média \pm erro padrão da média
- * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle. ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer

Na dose de 100mg/kg observou-se uma significativa alteração no número de entradas nos braços abertos (BA) e nos braços fechados (BF), havendo maior incidência de entradas nos braços abertos que nos fechados quando comparados aos controles, foi notável também a alteração no tempo de permanência nos braços abertos e fechados, ocorrendo maior permanência nos braços abertos, além disso, foi significativa o número de incidência de estiramentos nos animais tratados com 100mg/kg do extrato. Na dose de 150mg/kg, não houve alteração quanto ao número de entradas nos braços abertos, ocorreu apenas um leve aumento no número de entradas nos braços fechados, observou-se também que com esta dose houve uma leve alteração no padrão de permanência nos braços fechados, porém o tempo nos braços abertos foi insignificante em comparação com os controles, além disso, observou-se um leve aumento no número de estiramentos. Dessa, forma o extrato da *Passiflora nítida* alterou o comportamento ansioso, deflagrado pelo teste, em ambas as doses, porém na dose de 100mg/kg se mostrou mais eficiente, diminuindo o tempo de permanência nos braços fechados, além de estimular o sentido exploratório dos animais, aumentando a movimentação entre os braços e o número de estiramentos.

5.3 - Avaliação do efeito antidepressivo do extrato no modelo de teste de Nado forçado.

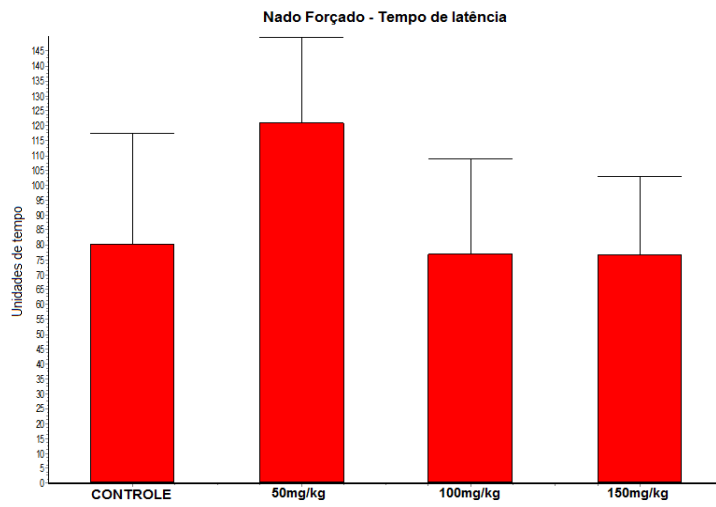


FIGURA 10

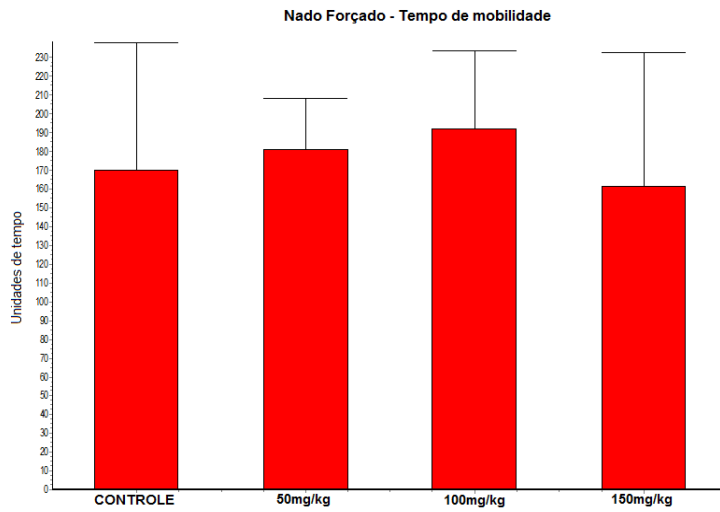


FIGURA 11

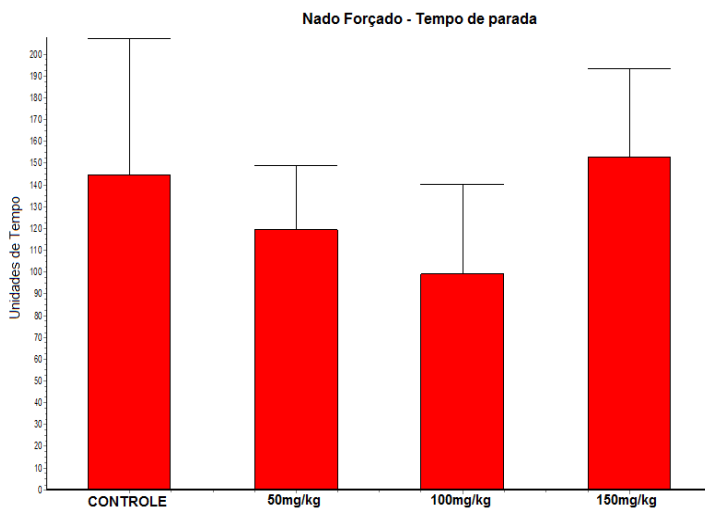


FIGURA 12

- **FIGURAS 10 a 12:** Representam os dados obtidos em 5 min de submissão dos animais ao teste de nado forçado, uma hora após os diferentes tratamentos. Nas figuras 10, 11 e 12 temos o tempo total em segundos de Latência para o animal parar de nadar, o tempo total de natação e o tempo total de imobilidade, respectivamente.
- Os dados se referem à média \pm erro padrão da média ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer

Observou-se na dose de 50mg/kg um considerável aumento (não significante) do tempo de latência para que o animal parasse de nadar, essa concentração apresentou também um leve aumento no tempo de mobilidade e diminuição do tempo de parada em comparação com os controles (não significantes). Na dose de 100mg/kg não houve alteração dos resultados para o parâmetro de tempo de latência, observou-se porem uma leve diminuição no tempo de parada e aumento no tempo de mobilidade. Na concentração de 150mg/kg não houve alterações dos resultados para todos os parâmetros quantificados, quando comparados aos controles.

Apesar de notarmos uma tendência a um efeito antidepressivo com a dose de 50mg/kg, os dados não foram significativamente diferentes dos dados dos animais controle. Baseando-se nestes resultados podemos afirmar que o extrato hidroetanólico de *Passiflora nítida* não possui efeito antidepressivo no modelo de nado forçado, sendo necessários outros testes para confirmar esse achado. O resultado deste teste também reafirma o que encontramos na literatura, pois os fitoterápicos oriundos do gênero *Passiflora* são utilizados em estados ansiosos de leves a moderados, sem associação de sintomas relacionados com síndrome depressiva.

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos por meio dos experimentos realizados chegamos à conclusão de que o extrato da *Passiflora nítida* tem efeito ansiolítico, demonstrado pelos testes de campo aberto e labirinto em cruz, como outros compostos fitoterápicos da mesma família

vegetal como a *Passiflora incarnata*, utilizada já há muito tempo na clínica médica para amenizar estados ansiosos e distúrbio do sono. Dessa forma, se torna importante que haja mais estudos com o extrato da *Passiflora nítida Kunth*, uma vez que houve um indicativo de sua ação sobre o Sistema Nervoso Central. Ainda existem muitos fitoterápicos a serem descobertos, capazes de auxiliar e acrescentar aos cuidados da medicina curativa, por isso faz-se necessário que estudos como este sejam realizados.

7. REFERÊNCIAS

- ANDREATINI, R. A. Importância dos modelos animais em psiquiatria. **Revista Brasileira Psiquiatria**, 24 (4), 164, 2002.
- CAPASSO, A., SORRENTINO L. Pharmacological studies on the sedative and hypnotic effect of *Kava kava* and *Passiflora* extracts combination. **Phytomedicine**, 12, 39-45, 2005.
- CARVALHO, M.J., Dissertação de Mestrado: "Caracterização fitoquímica e atividades farmacológicas de extratos das folhas do maracujá-do-mato (*Passiflora nítida Kunth*)", Universidade Federal do Amazonas, Mestrado em Patologia Tropical, 2008.
- CARVALHO, M.J., PEDROSA, T.N., GUILHON-SIMPLÍCIO, F., NUNEZ, C.V., OHANA, D.T., PEREIRA, M.M., LIMA, E.S., Estudo farmacognóstico e atividade *in vitro* sobre a coagulação sanguínea e agregação plaquetária das folhas de *Passiflora nítida Kunth* (Passifloraceae). *Acta Amazonica*, 40 (1), 199-206, 2010.

- CECHINEL-FILHO V., YUNES R.A., Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, 21 (1), 99-105, 1998.
- DE LIMA, R.A., VELHO, L.M.L.S., FARIA, L.I.L., Indicadores bibliométricos de cooperação científica internacional em bioprospecção. **Perspectivas em Ciências da Informação**, 12 (1), 50-64, 2007.
- DE-PARIS, F.G., NEVES, G., SALGUEIRO, J.B., QUEVEDO, J., IZQUIERDO, I., RATES, S.M.K., Psychopharmacological screening of *Pfaffia glomerata* Spreng (Amaranthaceae) in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, 73, 261-269, 2000.
- DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A.. *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 1-23, 2004.
- DHAWAN, K.; SHARMA, A.. Antitussive activity of the methanol extract of *Passiflora incarnata* leaves. **Fitoterapia**, v. 73, n. 5, p. 397-9, 2002.
- DHAWAN, K.; SHARMA, A.. Restoration of chronic- D9-THC-induced decline in sexuality in male rats by a novel benzoflavone moiety from *Passiflora incarnata* Linn. **British Journal of Pharmacology**, v. 138, n. 1, p. 117-20, 2004.
- DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A.; GONZALES, F.G.; PORTILHO, W. G. Violaes medicinais. In: DI Stasi, Luiz Claudio; Hirumalima, Clélia Akiko. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2. ed. São Paulo: **Editora da UNESP**, 2002.
- ELGORASHI, E.E., MALAN, S.F., STAFFORD, G.I., STADEN, J.V., Quantitative structure-activity relationship studies on acetylcholinesterase enzyme inhibitory effects of Amaryllidaceae alkaloids. **South African Journal of Botany**, 72, 224-231, 2006.

- GASPI, F.O.G., FOGLIO, M.A., CARVALHO, J.E., MORENO, R.A., Pharmacological activities investigation of crude extrats and fraction from *Qualea grandiflora* Mart. **Journal of Ethnopharmacology**. 107, 19-24, 2006.
- GEYER, M. A.; MARKOU, A. Animal models of psychiatric disorders. In: **Psychopharmacology: the Fourth Generation of Progress**. Bloom, F. E.; Kupfer, D. J. (eds.) Raven Press, New York, p. 787-798, 1995.
- GRAEFF, F.G., GUIMARÃES, F.S. Fundamentos da Psicofarmacologia. São Paulo: Atheneu, 246 p., 1999.
- GUIMARÃES, F. S. Modelos experimentais de doenças mentais. **Revista ABPAPAL**, 15(4), 149-52, 1993.
- HOPKINS, M. J. G.; SOUZA, M. A. D., Passifloraceae. In Ribeiro, J. E. L. S.; Hopkins, M. J. G.; Vicentini, A.; Sothers, C. A.; Costa, M. A. S.; Brito, J. M.; Souza, M. A. D.; Martins, L. H. P.; Lohmann, L. G.; Assunção, P. A. C. L.; Pereira, E.C.; Silva, C. F.; Mesquita, M. R.; Procópio, L. C., Flora da Reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. Manaus: **INPA**, 1999.
- JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; RAMOS, J. D.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.. Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro com base em marcadores moleculares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 29 (3), 571-575, 2007.
- KINGSTON D.G.I., The Chemistry of Taxol. **Pharmacology & Therapeutics**, 52 (1), 1-34, 1991.

LÖSCHER, W., SCHMIDT, D., New horizons in the development of antiepileptic drugs. **Epilepsy Research**, 50, 3-16, 2002.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, 27 (1/2), 33-39, 2008.

MONTANARI C.A., BOLZANI V.S., Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, 24 (1), 105-111, 2001.

OLIVEIRA, F.A., ALMEIDA, R.N., SOUSA, M.F., BARBOSA-FILHO, J.M., DINIZ, S.A., MEDEIROS, I.A., Anticonvulsant properties of N-salicyloyltryptamine in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 68, 199-202, 2001.

PINN G., Adverse effects associated with herbal medicine. **Australian Family Physician**, 30, 1070-1075, 2001.

PORSOLT, R.D.; LE PICHON, M., JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**; 2: 266 – 730, 1997.

PORSOLT, R.D.; MCARTHUR, R.; LENÈGRE, A. Psychotropic screening procedures. In: Van Haaren, F. **Methods in Behavioral Pharmacology**. Elsevier Science Publishers; 23-51, 1993.

REZENDE E.A., RIBEIRO M.T.F., Conhecimento tradicional, plantas medicinais e propriedade intelectual: biopirataria ou bioprospecção? **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, 7 (3), 37-44, 2005.

SALCEDO, J.M.V., CAMARGO, L.M.A., BRAGA, M.F.V., DE MARIA, P.S., MACEDO, V.O., Avaliação da eficácia do artesunato associado à tetraciclina na terapêutica da

malária falciparum. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 30 (3), 215-222, 1997.

SCCARO-JUNIOR N.L., Desafios da Bioprospecção no Brasil. **Texto para discussão nº 1569, do Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada do Governo Federal**, 2011.

SILVEIRA, P.F., BANDEIRA, M.A.M., ARRAIS, P.S.D., Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 18 (4), 618-626, 2008.

TESKE M., TRENTINI A.M.M., Compêndio de Fitoterapia, 2ªed. Herbarium Laboratório Botânico, Curitiba, Paraná, 1995.

VALDÉS, L.J., MISLANKAR, S.G., PAUL, A.G., *Coleus barbatus* (*C. forskohlii*) (Lamiaceae) and the potencial new drug forskolin (coleonol). **Economic Botany**, 41 (4), 474-483, 1987.

YAMAMOTO, T.; UNE T. Animal models of psychiatric disorder and their validity – from the perspective of behavioral pharmacology. **Nippon Yakurigaku Zasshi**, 120 (3), 173-180, 2002.

YUYAMA, L.K.O., MACEDO, S.H.M., AGUIAR, J.P.L., FILHO, D.S., YUYAMA, K., FÁVARO, D.I.T., VASCONCELOS, M.B.A., Quantificação de macro e micro nutrientes em algumas etnovarietades de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Acta Amazonica**, 37 (3), 425-430, 2007.

ZANOLI, P., AVALLONE, R., BARALDI, M., Behavioral characterisation of the flavonoides apigenin and chrysin. **Fitoterapia**, 71, 117-123, 2000.

CERTIFICADO CEUA



Poder Executivo
Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Comitê de Ética em Experimentação Animal – CEEA

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto de Protocolo nº 106/2012-CEEA/UFAM, intitulado como "Efeitos do tratamento com extrato da *Passiflora nitida Kunth* no Sistema Nervoso Central" sob responsabilidade e orientação de **Dr^a. Geane Antiques Lourenço**, está de acordo com a Legislação Federal pertinente ao uso científico de animais e foi **APROVADO** pelo COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA-UFAM) em Reunião ocorrida em 10/06/2013.

Manaus, 18 de junho de 2013.

Profa. Dra. Cinthya Lamille Fritzh Brandão de Oliveira
Diretora em exercício do Biotério Central da UFAM
Portaria 1561/2013- Gabinete da Reitoria, de 30 de abril de 2013