

Evidência de uma ação central exercida pela fração total de alcalóides de *Chondrodendron Platyphyllum* em camundongos

Evidence of a central activity exerted by total alkaloid fraction of *Chondrodendron Platyphyllum* in mice

FABRÍCIA COSTA MONTENEGRO¹
MARIA CLÉCIA DA PENHA SENA²
JOSÉ MARIA BARBOSA FILHO³
REINALDO NÓBREGA DE ALMEIDA³

RESUMO

Objetivo: Avaliar a atividade de *Chondrodendron platyphyllum* sobre o sistema nervoso central. **Material e Métodos:** Realizou-se testes gerais para avaliar o efeito da fração total de alcalóides sobre o SNC. A FTA nas doses de 100, 200 e 400 mg/kg foi administrada em camundongos por via i.p e foi realizado uma triagem farmacológica experimental, na qual foi avaliada a mudança comportamental dos animais. No teste da potencialização do tempo de sono barbitúrico, o pentobarbital sódico (PTB) 40 mg/kg, via i.p., foi administrado trinta minutos após da solução de FTA 200 mg/kg e os parâmetros observados neste teste foram: latência e tempo de sono. Também foi avaliada a coordenação motora dos animais tratados com FTA 200 mg/kg, no teste do rota-rod, foram considerados aptos os animais que permaneceram na barra giratório por 180s. **Resultados:** Os resultados obtidos por meio da triagem farmacológica demonstram que esta fração possui uma atividade no sistema nervoso central e que possivelmente esta atividade é depressora. O tratamento com a FTA não interferiu na latência e nem no tempo de sono induzido pelo PTB. A FTA não tem nenhum efeito miorelaxante e não interfere na coordenação motora dos animais submetidos ao rota-rod. **Conclusão:** A *Chondrodendron platyphyllum* exerce um efeito no SNC.

DESCRITORES

Plantas Medicinais. SNC. Testes de Nocicepção.

SUMMARY

Objective: To evaluate the activity of *Chondrodendron platyphyllum* on CNS. **Material and Methods:** Were performed general tests to assess the effect of the TAF on the CNS. The TAF in doses of 100, 200 and 400 mg / kg was administered to mice by intraperitoneal route and a pharmacological screening trial was carried out, which evaluated the behavioral change of the animals. In the test of potentiation of barbiturate sleeping time, sodium pentobarbital (PTB) 40 mg / kg, ip, was administered thirty minutes after the TAF solution of 200 mg / kg. The parameters observed in this trial were: latency and sleep time. Were also evaluated the motor coordination of the animals treated with TAF 200 mg / kg in the rota-rod test. The animals considered fit were those which remained in the revolving bar for 180s. **Results:** The results obtained by pharmacological screening showed that this fraction has an activity in the central nervous system and possibly that this activity is depressing. The treatment did not interfere either with the TAF in latency or with the time of sleep induced by PTB. The TAF has no myorelaxing effect and doesn't interfere with motor coordination of the animals subjected to rota-rod. **Conclusion:** *Chondrodendron platyphyllum* exerts a depressant effect on CNS.

DESCRIPTORS

Plants, Medicinal. CNS. Pain Measurement.

- 1 Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/ Centro de Ciências da Saúde/LTF, Universidade Federal da Paraíba.
- 2 Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/ Centro de Ciências da Saúde/LTF, Universidade Federal da Paraíba.
- 3 Doutor. Professor do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/Centro de Ciências da Saúde/LTF, Universidade Federal da Paraíba.

A família Menispermaceae pertence à ordem Ranunculales e tem 72 gêneros com mais de 400 espécies. Estas espécies podem ser encontradas por toda a América, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais (PORTO *et al.*, 2008). No Brasil a família Menispermaceae conta com 12 gêneros e 106 espécies e a maioria delas é encontrada na região Amazônica (KRUKOFF, BARNEBY, 1970; BARROSO, 1978).

Esta família é bastante conhecida pelos estudos químicos e farmacológicos realizados com a espécie *Chondrodendron* (PORTO *et al.*, 2008). *Chondrodendron* é rica em alcalóides do tipo curare, o qual é usado pelos índios na caça. O mecanismo de ação do curare se dá pelo bloqueio do receptor de acetilcolina na placa motora (nAChR) (BISSET, 1992; BOWMAN, 2006). A d-tubucurarina é um dos mais importantes alcalóides do tipo curare. No passado, a d-tubucurarina foi usada para determinar o papel da acetilcolina na transmissão neuromuscular e atualmente ela é utilizada como relaxante muscular durante procedimentos cirúrgicos (AQUAYO *et al.* 2006; BOWMAN, 2006).

Chondrodendron platyphyllum é uma espécie sul-americana, usada na medicina popular para o tratamento da febre causada pela malária e como anti-espasmódico. Da raiz desta planta são isolados alcalóides bisbenzilisquinolínicos (BBA) tais como a curina e 12-O-metilcurina. É sabido que estes dois alcalóides atuam como vasodilatadores da aorta de ratos (DIAS *et al.* 2002; GUEDES *et al.* 2002).

O uso de plantas medicinais pela população tem se intensificado, atraindo o interesse da comunidade científica, uma vez que são fontes muito ricas de novas drogas. Como já é sabido que algumas espécies pertencentes à família Menispermaceae tem uma ação no sistema nervoso central (SNC), o nosso trabalho teve o objetivo de avaliar a atividade de *Chondrodendron platyphyllum* sobre o SNC.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) albinos machos da linhagem *Swiss* provenientes do biotério Professor Thomas George da Universidade Federal da Paraíba. Os animais tinham três meses de idade e pesavam entre 30 e 40 gramas. Os animais eram acomodados em gaiolas de polipropileno, com livre acesso a água e ração do tipo pelet (Purina, Brasil) e

submetidos a um ciclo claro/escuro de 12 horas cada a uma temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Todos os experimentos foram realizados entre 12 e 17 horas. Antes e durante cada experimento, os animais eram privados de água e alimento por pelo menos 1 hora. Os animais eram levados para a sala experimental uma hora antes de cada experimento. Essas medidas objetivaram minimizar possíveis alterações no comportamento animal permitindo, também, uma adaptação ao novo ambiente. Ao término dos experimentos, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal local (CEPA; nº 0206/08).

Substância teste

Para todos os experimentos foi utilizada a fração total de alcalóides (FTA) extraída da raiz da *Chondrodendron platyphyllum*. Esta fração foi extraída segundo descrito por LACERDA, (1999) e o preparo era feito antes de cada experimento. A FTA foi diluída em água destilada com Tween 80 a 5%. A solução controle foi água destilada com Tween 80 a 5%. As substâncias foram administradas via intraperitoneal (i.p.) na proporção de 0,1ml para cada 10g de peso animal.

Triagem farmacológica comportamental

Para esse procedimento os animais foram divididos em quatro grupos: controle (n=8), experimental I (n=8), experimental II (n=8) e experimental III (n=8). Decorrido o tempo de exploração do novo ambiente, foram administradas três doses da FTA. O grupo experimental I recebeu a dose de 100 mg/kg da FTA; o experimental II, a dose de 200 mg/kg da FTA; e o experimental III, a dose de 400 mg/kg da FTA. O grupo controle recebeu água destilada com Tween 80 a 5%. A mudança do comportamento animal (hiperatividade, movimento intenso das vibrissas, ambulação, bocejo excessivo, autolimpeza, perda do reflexo corneal, perda do reflexo auricular, resposta ao toque diminuído, analgesia, pedalar, hipnose, ptose palpebral, sedação, anestesia, irritabilidade, piloereção, catatonía, agressividade, levantar, escalar, tremores, convulsões, ataxia, reflexo do endireitamento, vocalizar, sacudir a cabeça, contorções abdominais, abdução das patas do trem posterior, diarreia, constipação, defecação, respiração forçada, lacrimejamento, micção, salivação, cianose, tônus muscular e força para agarrar) foi verificada nos intervalos de 30, 60, 120, 180 e 240 minutos, e o número de mortes foi observado até 72 horas após a administração da substância teste (ALMEIDA, 1999).

Potencialização do tempo de sono barbitúrico

Os camundongos foram privados de alimentos durante 4 horas antes do início do experimento. Os animais foram pesados e divididos em dois grupos: um controle (n=8) e um experimental (n=8). O grupo experimental recebeu a dose de 200 mg/kg da FTA. A administração do pentobarbital sódico (PTB) 40 mg/kg foi feita, via i.p., trinta minutos após a administração da solução controle nos animais do grupo controle, e da solução de FTA nos animais do grupo experimental. Os parâmetros observados neste teste foram: latência e tempo de sono (ALMEIDA, 2006).

Teste do *rota-rod*

Inicialmente, os animais foram pré-selecionados no aparelho de *rota-rod* (EF 412, Insight, Brasil). Os animais que foram capazes de permanecer na barra giratória (7 r.p.m) por 300 segundos foram selecionados. A seleção ocorreu 24 horas antes do teste. Os animais considerados aptos foram divididos em dois grupos: um controle (n=8) e um experimental (n=8). O grupo experimental recebeu a dose de 200 mg/kg da FTA, 30 minutos antes do experimento. Decorridos os 30 minutos pós-tratamento, os animais foram colocados no aparelho e o tempo de permanência de cada animal, na barra giratória até 180 segundos, foi gravado em diferentes intervalos de tempo: 30, 60 e 120 minutos após a administração das substâncias (GONÇALVES *et al.*, 2008).

Estatística

A análise estatística foi realizada no programa *Graph Pad Prism* versão 5.0. O teste estatístico utilizado foi o teste *t* de *Student*. Os dados são apresentados como a média \pm erro padrão da média (e.p.m.) e considerados significativos quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os animais tratados com 100 mg/kg de FAT, por via i.p., foi observada catatonia até 240 minutos após o tratamento. Resposta ao toque diminuída e contorções abdominais presentes nos primeiros 30 minutos de tratamento. Observou-se também que a ambulação dos animais foi diminuída neste mesmo intervalo de tempo. A defecação e micção dos animais demonstram-se alteradas no período de 30 – 240 minutos pós-tratamento. Já nos animais que foram tratados com a

dose de 200 mg/kg da FTA, foi observada analgesia e contorções abdominais nos primeiros 30 minutos de tratamento, sendo que as contorções abdominais persistiram até 60 minutos após o tratamento. A resposta ao toque foi diminuída até 120 minutos após o tratamento. A ambulação dos animais foi diminuída até 120 minutos pós-tratamento e a defecação foi diminuída até 240 minutos pós-tratamento. No tratamento de 400 mg/kg, os animais apresentaram analgesia após 120 minutos de tratamento. Resposta ao toque e ambulação diminuídas presentes nos primeiros 30 minutos do tratamento, persistindo até 120 minutos pós-tratamento. Contorções abdominais foram observadas até 60 minutos pós-tratamento. Observou-se também que a defecação dos animais foi diminuída durante todo o período de observação e a micção diminuída no período de 30 minutos até 240 minutos pós-tratamento.

O tratamento feito com FTA 200 mg/kg em camundongos machos, por via i.p., não interferiu na latência (segundos) e nem no tempo de sono (minutos) induzido pelo pentobarbital (PTB) de maneira significativa (Figura 1). O tempo médio da latência do grupo controle foi de $348,3 \pm 326,2$ segundos; e do grupo tratado com FTA 200 mg/kg, de $570,5 \pm 400,5$ segundos. Já o tempo médio do sono dos animais do grupo controle foi de $97,6 \pm 49,6$ minutos; e dos animais tratados com a FTA, de $82,2 \pm 19,3$ minutos.

O tratamento feito com FTA 200mg/kg, por via i.p., não alterou a coordenação motora dos animais (Figura 2). Aos 30 minutos pós-tratamento, o tempo de permanência na barra giratória dos animais tratados com FTA foi de $167,6 \pm 35$ segundos; e aos 60min e 120min pós-tratamento, de $179,8 \pm 0,4$ segundos. Já o tempo de permanência na barra giratória dos animais não tratados aos 30, 60 e 120 minutos foi de $180,0 \pm 0,0$ segundos.

DISCUSSÃO

A literatura tem relatado que espécies pertencentes à família Menispermaceae possuem ação no sistema nervoso central. A exemplo disso, temos o extrato etanólico das folhas de *Cissampelos sympodialis*, possuidor de uma atividade antidepressiva; e o extrato etanólico da raiz de *Cissampelos mucronata*, contendo uma ação depressora do SNC em modelos animais (ALMEIDA *et al.*, 1998, AKAH, NWAFOR, OKOLI, EGBOGHA, 2002). No entanto, ainda não havia sido verificado se, assim como outros membros da família Menispermaceae, a espécie *Chondrodendron platyphyllum* possui efeito no SNC.

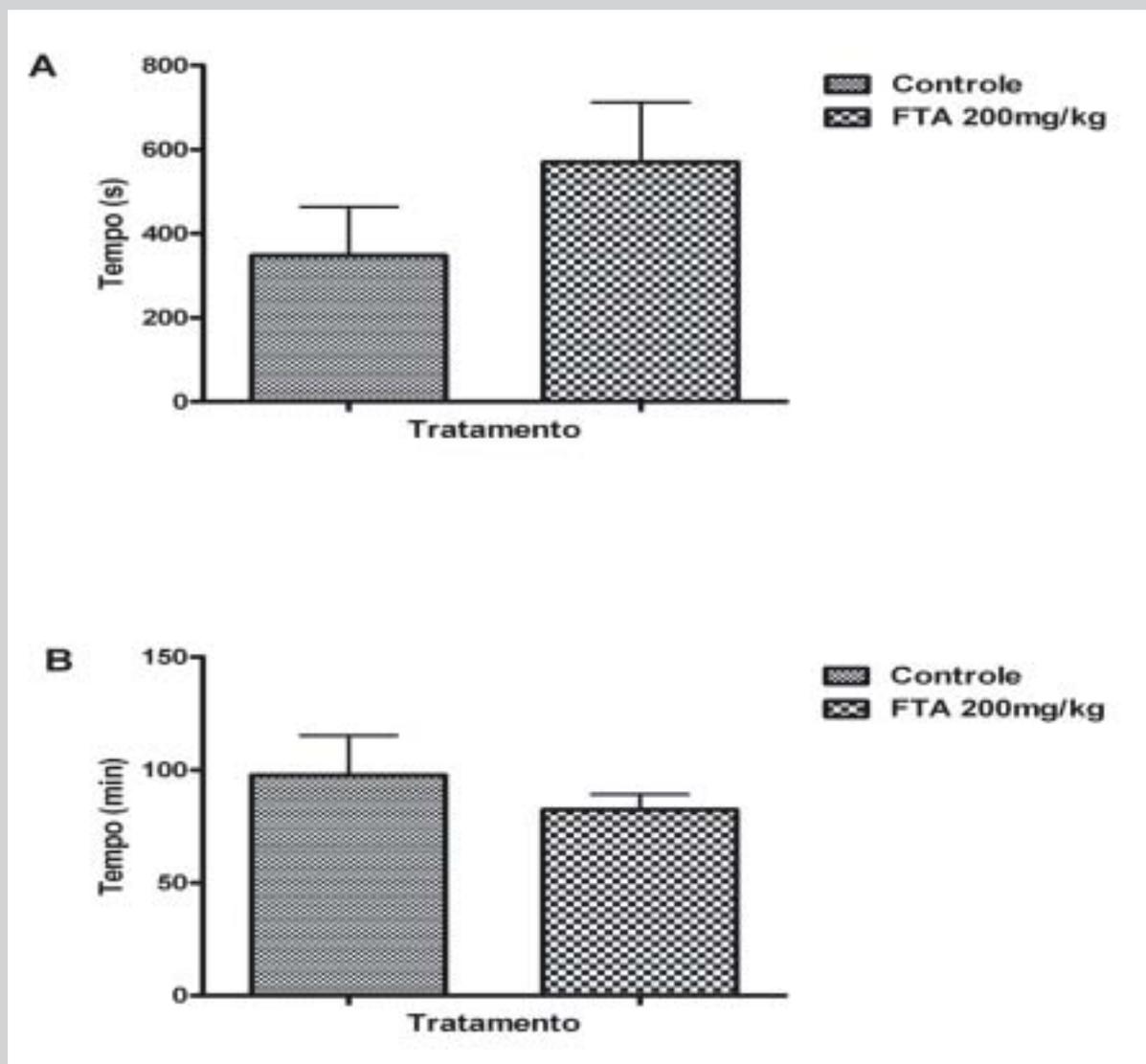


Figura 1 – Efeito da FTA sobre a potencialização do sono induzido pelo pentobarbital sódico. (A) Latência, tempo (segundos) que os animais tratados com a fração total de alcalóides (FTA) de *C. platyphyllum* levaram para permanecerem na posição de decúbito dorsal e (B) Tempo de sono, tempo (minutos) decorrido entre a perda e a recuperação do reflexo de endireitamento. Os dados são apresentados como a média \pm e.p.m.; n=8; teste estatístico: teste t de Student.

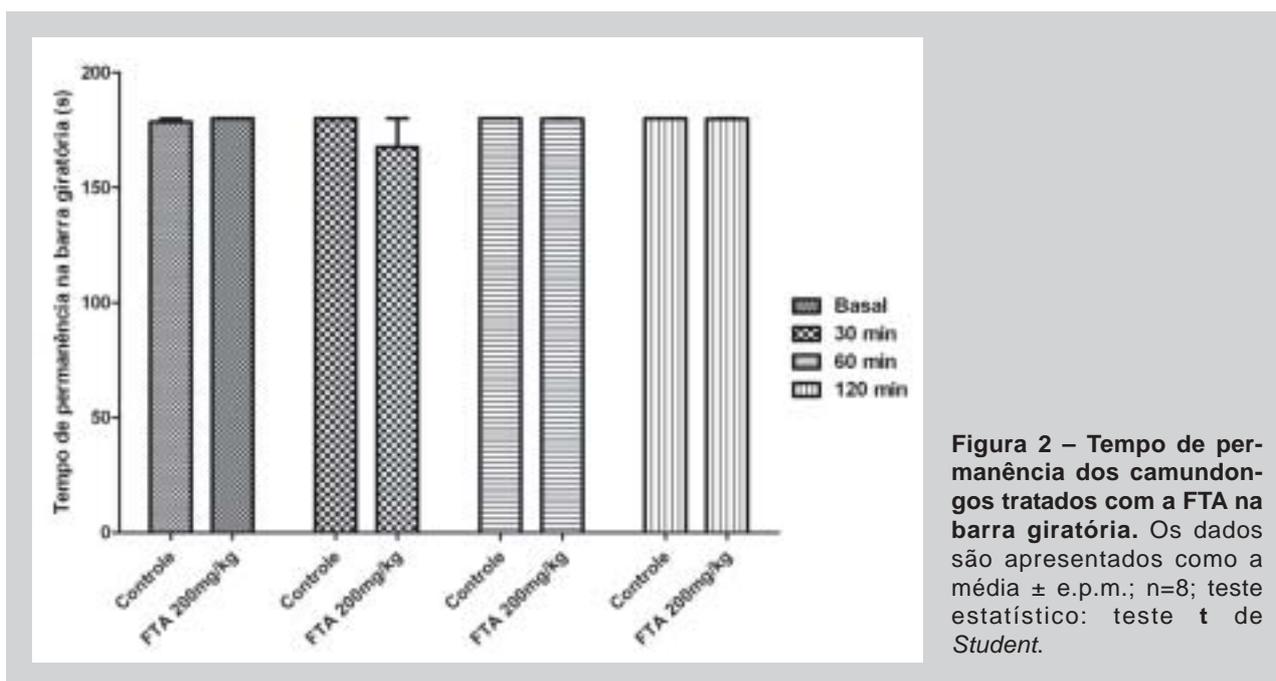


Figura 2 – Tempo de permanência dos camundongos tratados com a FTA na barra giratória. Os dados são apresentados como a média \pm e.p.m.; n=8; teste estatístico: teste t de Student.

A triagem farmacológica comportamental é um teste preliminar de fácil execução e capaz de detectar de forma qualitativa importantes ações centrais (ALMEIDA, 1999). Os resultados obtidos no presente estudo, por meio da triagem farmacológica, demonstram que os animais tratados com a FTA exibiram mudanças comportamentais, tais como: resposta ao toque diminuída, ambulação diminuída, defecação e micção alteradas, analgesia e contorções abdominais. Tais modificações comportamentais são indicativas de que essa fração possui uma atividade no SNC e que essa atividade é depressora.

Dando continuidade à investigação de atividade da FTA no sistema nervoso central, foi realizado o teste de potencialização do sono pelo pentobarbital. Esse teste avalia se uma determinada droga possui uma ação depressora do sistema nervoso central, por meio da potencialização do tempo de sono induzido pelo pentobarbital em animais. O início do sono foi considerado quando os animais foram colocados na posição de decúbito dorsal e permaneceram nessa posição, então, foi acionado um cronômetro e anotado o tempo decorrido entre a perda e a recuperação do reflexo de endireitamento (tempo de sono). O critério de recuperação do reflexo de endireitamento foi fixado quando o animal saiu da posição imposta por três vezes consecutivas. A latência corresponde ao tempo (em segundos) que os

animais levaram para permanecerem na posição de decúbito dorsal. Nos animais tratados com a FTA 200 mg/kg, não houve interferência na latência nem no tempo de sono induzido pelo pentobarbital, como era esperado, já que sedação não foi um dos comportamentos observados durante a triagem farmacológica.

Como foi verificada uma movimentação espontânea reduzida dos animais tratados com a FTA e, por se tratar de uma planta produtora de curare, verificamos também a coordenação motora dos animais tratados com a fração total de alcalóides, no teste do *rota-rod*. Todos os animais tratados com a FTA 200 mg/kg foram capazes de permanecer na barra giratória por 180 segundos, indicando que a fração total de alcalóides não tem nenhum efeito miorelaxante e não interfere na coordenação motora dos animais.

CONCLUSÃO

Os testes realizados no presente trabalho demonstraram que a fração total de alcalóides de *C. platyphyllum* apresenta uma atividade depressora do sistema nervoso central. Essa mesma fração não foi capaz de alterar a latência nem o tempo de sono induzido pelo pentobarbital, nem a coordenação motora dos animais testados.

REFERÊNCIAS

- 1) AGUAYO LG, GUZMAN L, PEREZ C, AGUAYO LJ, SILVA M, BECERRA J, FUENTEALBA J. Historical and current perspectives of neuroactive compounds derived from Latin America. *Mini Rev. Med. Chem.* 6(9):997-1008, 2006.
- 2) AKAH PA, NWAFOR SV, OKOLI CO, EGBOGHA CU. Evaluation of the sedative properties of the ethanolic root extract of *Cissampelos mucronata*. *Boll. Chim. Farm.* 141(3):243-6, 2002.
- 3) ALMEIDARN, NAVARRO DS, ASSIS TS, MEDEIROS IA, THOMAS G. Antidepressant effect of an ethanolic extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* in rats and mice. *J of Ethnopharma.* 63(3): 247-252, 1998.
- 4) ALMEIDA R N, FALCÃO ACGM, DINIZ RT, JÚNIOR LJQ, POLARI RMP, FILHO JMB, AGRA MF, DUARTE JCD, FERREIRA DF, ANTANIOLE A, ARAÚJO CA. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no sistema nervoso central e alguns dados experimentais. *Rev Bras de Ciênc Farma.* 80 (3/4): 72-76, 1999.
- 5) BARROSO GM. *Sistemática de Angiospermas do Brasil.* p 56, Ed. da Universidade de São Paulo, EPUSP: São Paulo, 1978.
- 6) BISSET NG. War and hunting poisons of the New World. Part 1. Notes on the early history of curare. *J of Ethnopharm.* 36(1):1-26, 1992.
- 7) Bowman, W. C. Neuromuscular block. *Brit J of Pharma.* 147(S1): S277-S286, 2006.
- 8) DIAS CS, BARBOSA-FILHO JM, LEMOS VS, CÔRTEZ SF. Mechanisms involved in the vasodilator effect of curine in rat resistance arteries. *Planta Med.* 68(11):1049-51, 2002.
- 9) GONÇALVES JCR, OLIVEIRA FS, BENEDITO RB, SOUZA DP, ALMEIDARN, ARAÚJO DAM. Antinociceptive Activity of (-)-Carvone: Evidence of Association with Decreased Peripheral Nerve Excitability. *Biol & Pharma Bull.* 31(5):1017-1020, 2008.
- 10) GUEDES DN, BARBOSA-FILHO JM, LEMOS VS, CÔRTEZ SF. Mechanism of the vasodilator effect of 12-O-methylcurine in rat aortic rings. *J Pharma and Pharma.* Jun. 54(6):853-8, 2002.
- 11) KRUKOFF BA, BARNEBY RC. Supplementary notes on American Menispermaceae - VI. *Mem New York Bot Gard* 20: 1-70, 1970.
- 12) LACERDA CG. Isolamento e identificação de alcalóides bisbenzilisquinolínicos de *Chondodendron platyphyllum* A. St. Hil (Miers), e avaliação da atividade vaso relaxante em artérias de resistência. *Dissertação*, João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 1999, 112 p.
- 13) PORTO NM, BASÍLIO IJLD e AGRA MF. Estudo farmacobotânico de folhas de *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae). *Rev Bras de Farma,* 18(1):102-107, 2008.

CORRESPONDÊNCIA

Fabírcia Costa Montenegro
 Programa de Pós-Graduação em Produtos
 Naturais e Sintéticos Bioativos/ Centro de Ciências da Saúde/LTF
 Universidade Federal da Paraíba
 58051-900 João Pessoa – Paraíba – Brasil

E-mail
 fcmontenegro14@hotmail.com