

ESTUDO DA AÇÃO DEPRESSORA INESPECÍFICA DO SUCO EXTRAÍDO DAS FOLHAS DE *Bryophyllum calycinum* Salisb. (Crassulaceae) SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL. COMPARAÇÃO COM OS EFEITOS DA DIFENIDRAMINA*.

Study on the innespecific depressive action of the leaves juice of *Bryophyllum calycinum* Salisb. (Crassulaceae) in the central nervous system. Comparison with diphenhydramine effects.

NASSIS, Cristina De Zotti **
LAGO, Letícia Cavinato ***
MORY, Susana Barretto ***
RAQUEL, Marcos Kardequi Silva ***
FIGUEIREDO, Cláudia Regina ****
LEBRE, Andréa Temponi ****
GIESBRECHT, Astréa Menucci *****

NASSIS, C.D.Z. et al. Estudo da ação depressora inespecífica do suco extraído das folhas de *Bryophyllum calycinum* Salisb. (Crassulaceae) sobre o sistema nervoso central. Comparação com os efeitos da difenidramina. Arq. med. ABC, 14(2): 64-68 , 1991.

Resumo: *Bryophyllum calycinum* Salisb. (Crassulaceae) é uma planta largamente utilizada em regiões tropicais e subtropicais como medicação tópica em afecções cutâneas de natureza alérgica. Tal utilização foi fundamentada sob o ponto de vista farmacológico, por um trabalho (NASSIS, 1991) que demonstra ser o suco extraído das folhas desta planta, um potente antagonista dos receptores H1 a nível periférico em ratos. Durante a realização do referido trabalho, foi verificada uma aparente ação depressora central exercida pelo suco caracterizada por sonolência e imobilidade dos animais.

No presente trabalho, a proposta foi estudar tal ação, verificando se realmente o suco exercia ação depressora significativa sobre o SNC.

Os experimentos realizados demonstraram que o suco (4,0 g/Kg) inibe a atividade locomotora em campo aberto, e potência o tempo de sono induzido por pentobarbital em ratos. Resultados similares foram obtidos com a administração de difenidramina (20 mg/Kg), indicando a necessidade de realização de experimentos mais específicos para a verificação de uma eventual ação anti-histamínica central.

Unitermos: Plantas, Crassulaceae, Sistema Nervoso Central, Difenidramina, Depressão.

1. INTRODUÇÃO

O emprego de plantas em medicina popular tem-se difundido muito nos últimos anos. Contudo, apesar da popularidade e do largo uso sob formas farmacêuticas as mais diversas, como infuso, decocto e macerado, poucas são as espécies, especialmente no Brasil, que possuem atividades terapêuticas comprovadas à luz da Ciência.

Além disto, duas características tornam importante a pesquisa cientificamente direcionada dos efeitos terapêuticos de produtos naturais no Brasil: a riqueza da flora, que permite uma grande diversidade de opções ao pesquisador e as condições precárias de vida da maior parte da população, o que faz com que a pesquisa de medicamentos mais facilmente acessíveis seja fundamental.

Outro fato digno de nota é que os princípios ativos extraídos de plantas podem ser, além de economicamente mais viáveis, mais potentes quanto aos originários de síntese.

Em termos de SNC, CARLINI & BURGOS (5) ressaltaram a importância do estudo farmacológico de produtos derivados de plantas, com intuito de se obterem medicamentos menos tóxicos e mais economicamente viáveis.

Bryophyllum calycinum Salisb. (Crassulaceae) é uma espécie largamente disseminada em regiões tropicais e subtropicais, sobretudo no Brasil e na Índia (7,9,13,19) onde encontra ampla utilização em medicina popular, em casos de manifestações cutâneas de natureza alérgica, como, por exemplo, picadas de inseto.

A planta possui ampla sinonímia científica: *Bryophyllum pinnatum* Kurz; *Cotyledon calycina* Soland.; *Coleddon rhizophilla* Roxb.; *Crassovia floripendula* Commers.; *Kalanchoe pinnata* Pers. (7,12). Popularmente, também existe um extensa nomenclatura para a espécie: folha da fortuna, folha da costa, árvore da fortuna, erva da costa, coirama, courama, diabinho, folha da vida, folha de pirarucu, folha grossa, fortuna, milagre de São Joaquim, orelha de monge, pirarucu, roda de fortuna, saião (7,13).

A pesquisa farmacológica envolvendo *B. calycinum* tem sido realizada, até o presente momento, com base em seus principais usos populares de seu suco (7,13), ou seja, como anti-pruriginoso.

Devido a este fato, foi investigada e comprovada em ratos, a ação anti-histamínica (H1) periférica do suco extraído das folhas de *B. calycinum* (17). O mesmo trabalho demonstrou as principais características do bloqueio exercido sobre as ações da histamina mediada por receptores H1 em dois modelos: aumento da permeabilidade vascular (10) e modificação na contratilidade desencadeada em fleo de cobaio (17) com antagonismo entre o suco e a histamina, dessa forma, classificado como competitivo específico e reversível.

Entretanto, durante tais experimentos, verificou-se um certo grau de sedação, sonolência e apatia desencadeada nos animais pelo suco. Por este motivo, resolveu-se pesquisar os efeitos exercidos pelo suco das folhas de *B. calycinum* sobre o SNC. Em

* Trabalho laureado com o Prêmio Nylceo Marques de Castro, no XVI COMUABC

** Prof. Auxiliar de Ensino da Disciplina de Farmacologia da F.M.ABC. Pós-graduada do Depto. de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

*** Acadêmicos do 3º ano da F.M.ABC

**** Acadêmicos do 4º ano da F.M.ABC

***** Prof. Associada ao Depto. de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

um trabalho anterior (17), foi demonstrada uma significativa atividade analgésica do suco, em ratos, pelo método dolorimétrico (aplicação de calor local). O presente trabalho consiste numa continuação dos estudos dos efeitos centrais do suco das folhas de *B. calycinum*.

Foi realizado um estudo comportamental preliminar, no intuito de se verificar e caracterizar a ação depressora inespecífica do suco sobre o SNC, em ratos, por intermédio de dois modelos experimentais: medida da atividade geral em campo aberto (4) e estudo da potencialização do "sleeping-time" induzido por barbituratos (21).

Em todos os experimentos realizados foi incluído um grupo controle com difenidramina, um anti-histamínico H1 clássico. Este procedimento foi adotado visando, tanto neste trabalho preliminar, quanto em trabalhos futuros, mais específicos, verificar a eventual existência de uma atividade do suco sobre o sistema histaminérgico central, visto que a difenidramina possui, comprovadamente, este tipo de efeito (2,3,6,8,11,15).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

2.1.1. Obtenção do suco

A planta foi colhida na região de Caraguatatuba SP e indentificada no Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da USP.

As folhas da planta foram submetidas ao processo de expressão mecânica e o material obtido foi passado por papel filtro Whatman qualitativo. O filtrado de densidade igual a 1,0004 g/ml, foi utilizado nos experimentos.

2.1.2. Drogas

Difenidramina (Merck), Cloreto de sódio (Merck), Pentobarbital sódico (Sigma).

2.1.3. Animais

Foram utilizados ratos Wistar, machos, de mesma linhagem, com 3 a 4 meses de idade pesando de 250 a 300g. Estes animais foram obtidos do biotério do Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

2.2. Métodos

2.2.1. Medida de atividade geral

A atividade geral dos ratos foi avaliada por meio de observação direta em campo construído baseado naquele sugerido por BROADHURST (4). Esse aparelho é constituído de uma arena circular de madeira com 97 cm de diâmetro e 32,5 cm de altura, pintada de branco. O fundo desta arena é dividido por meio de 3 círculos concêntricos, em 3 partes que, por sua vez, são subdivididos através de segmentos de retas em 19 partes aproximadamente iguais. A arena esta contida em uma caixa de

madeira a uma distância de 48 cm do chão, tendo na sua parte frontal aberta, uma cortina que permite ao observador uma visão global do animal, dificultando a este a visão do experimentador; a parte superior da caixa distante 74 cm do chão da arena, provê a iluminação da mesma através de uma lâmpada de 40 watts.

Para as observações, cada animal foi colocado individualmente, no centro da arena; cada sessão durou 3 minutos.

Com a finalidade de homogeneizar a situação experimental, o campo aberto foi limpo com uma solução de álcool a 5% antes de cada sessão. Esse procedimento visou eliminar possíveis odores emitidos por animais previamente observados.

As observações dos animais dos grupos controle experimentais foram intercaladas e conduzidas entre 8:00 e 12:00 horas, do período claro do ciclo de luz, para evitar possíveis interferências devido a variações circadianas.

Foram utilizados 3 grupos de 10 animais cada um, sendo que, um grupo experimental recebeu suco via intra-peritoneal (4,0 g/Kg) e dois controles receberam 4,0 ml/Kg de solução salina ou uma solução de difenidramina de 20 mg/Kg, também por via intra-peritoneal, sempre 30 minutos antes dos experimentos.

Os parâmetros observados e registrados no campo aberto representam categorias comportamentais do repertório dos animais nesse aparelho. São eles:

— *Locomoção* (LO): o animal, com o tronco afastado do chão por meio de movimentos alternados das quatro patas, levantando-se e voltando a apoiá-las em outro local, desloca-se horizontalmente sobre o fundo da arena do campo aberto.

— *Levantar* (LE): uma unidade de medida corresponde ao movimento do animal apoiar-se apenas nas patas posteriores, com a cabeça dirigida para cima e com o corpo perpendicular em relação ao chão da arena, tocando ou não as paredes laterais com as patas anteriores.

— *Imobilidade* (ID): ausência de movimentação; imobilidade posicional do animal; registrou-se a duração em segundos, desse parâmetro.

O registro das frequências dos parâmetros foi feito por intermédio de um contador digital. Para a medida da duração de parado utilizou-se um cronômetro.

2.2.2. Potencialização do "sleeping-time" de barbituratos em ratos

A substância em estudo foi injetada por via intra-peritoneal em grupos de 10 ratos. Trinta ou sessenta minutos após à administração do suco, os animais receberam 50 mg/Kg de pentobarbital sódico pela mesma via. O tempo decorrido entre a perda e a recuperação do reflexo de postura foi medido. Foram utilizados dois grupos controles, um tratado com solução salina e outro com difenidramina (20 mg/Kg), trinta minutos antes do início dos experimentos.

2.2.3. Métodos Estatísticos

A análise estatística dos resultados foi realizada empregando-se testes paramétricos. Havendo significância na análise de variância, procedem-se o teste de contrastes entre médias. Em todos os cálculos utilizou-se o nível crítico para rejeição da

hipótese de nulidade igual ou menor que 0,05. Os asteriscos serviram, no presente trabalho, para caracterizar todas as diferenças estatisticamente significativas:

3. RESULTADOS

3.1. Medida da atividade geral

O animais tratados com o suco extraído das folhas de *B. calycinum* (4,0 g/Kg) apresentaram diminuição significativa nos parâmetros LO e LE em relação ao grupo controle tratado com solução salina. Por outro lado, o parâmetro ID apresentou aumento significativo em relação ao mesmo grupo controle.

Ao se fazerem as comparações entre o grupo tratado com o suco colocou a tabela a seguir ou o mais próximo o possível. (Tabela 1) e o grupo controle com difenidramina, não se verificaram diferenças significativas em nenhum dos três parâmetros testados. Os resultados dos experimentos citados encontram-se na tabela 1.

TABELA 1

Efeitos provocados pela administração do suco extraído da folhas de *Bryophyllum calycinum* (4,0 g/Kg) e de difenidramina (DPD) 20 mg/Kg, sobre a atividade geral dos ratos (n=10). Os resultados estão expressos em termos de média \pm erro padrão da média.

Grupo	Parâmetros		
	LO (unidades)	LE (unidades)	ID(s)
salina	120 \pm 10	49 \pm 5	22 \pm 8
DPD	89 \pm 6 (*)	32 \pm 6 (*)	62 \pm 9 (*)
suco	78 \pm 9 (*)	26 \pm 7 (*)	70 \pm 6 (*)

LO = locomoção LE = levantar ID = imobilidade

(*) Resultados significativos ao nível do 5%.

(Diferenças entre o grupo tratado com solução salina e os demais).

3.2. Medida da potencialização do "sleeping-time" de barbituratos

Conforme pode ser observado na tabela 2, o suco na dose de 4,0 g/Kg administrado 30 ou 60 minutos antes do início dos experimentos, desencadeou aumento significativo no tempo de sono induzido pelo pentobarbital sódico em relação ao grupo tratado com solução fisiológica.

Além disso os animais tratados com o suco não mostraram diferenças significativas na alteração do tempo de sono induzido pelo pentobarbital sódico quando comparados com os tratados com difenidramina.

TABELA 2

Efeitos da administração do suco extraído das folhas de *Bryophyllum calycinum* (4,0 g/Kg) e de difenidramina (DPD) 20 mg/Kg, sobre o tempo de sono induzido pelo pentobarbital sódico, em ratos, administrado 30 ou 60 minutos antes do início dos experimentos.

Os resultados estão expressos em termos de média \pm erro padrão da média.

Grupo	tempo de sono/min
salina	30,0 \pm 0,49
DPD	56,2 \pm 0,65 (*)
suco 30'	59,4 \pm 1,06 (*)
suco 60'	50,7 \pm 0,98 (*)

(*) Resultados significativos ao nível do 5%

(Diferenças entre o grupo tratado com solução salina e os demais).

4. DISCUSSÃO

De maneira geral, os estudos farmacológicos envolvendo plantas medicinais são conduzidos no sentido de se confirmarem e fundamentarem os usos populares das mesmas (5,21).

No presente trabalho, optou-se pela investigação de um efeito observado empiricamente, em ratos, durante estudos, anteriormente realizados (17) envolvendo o suco extraído das folhas de *B. calycinum*, ou seja, uma aparente depressão do SNC. Portanto, a abordagem experimental adotada nos experimentos aqui descritos visou a uma verificação preliminar da ação depressora do SNC.

CARLINI & BURGOS (5), VALLE & LEITE (21) e FAINGOLD (8); entre outros autores, descrevem dois métodos experimentais básicos para o estudo dos efeitos inespecíficos de drogas sobre SNC: a observação da atividade geral dos animais em campo aberto e a medida das alterações verificadas sobre o tempo de sono induzido por barbituratos após à administração

das drogas em estudos. Assim, optou-se no trabalho aqui descrito pela utilização de tais métodos.

Os resultados obtidos nos experimentos envolvendo observações em campo aberto, e apresentados na tabela 1 demonstram, essencialmente, uma ação inibitória significativa do suco (4,0 g/Kg) sobre a atividade locomotora desses animais, o que, segundo CARLINI & BURGOS (5) indica uma ação depressora central.

Os resultados apresentados na mesma tabela indicaram, ainda, que a difenidramina na dose utilizada também apresentavam ação inibitória sobre a atividade locomotora dos animais, e, além disso, mostraram que os valores obtidos para os parâmetros testados após à administração do suco não diferiam significativamente dos obtidos após o tratamento com a alquilamina. Destes experimentos, podemos inferir que o suco nas condições de trabalho já descritas, possui, realmente uma ação depressora do SNC, comparável à da difenidramina.

Os experimentos realizados no sentido de se avaliar a ação do suco e da difenidramina sobre o tempo de sono induzido por pento-barbital sódico apresentando resultados similares, ou seja, o suco (4,0 g/Kg) potencializou, significativamente, o tempo de sono induzido, em ratos, pelo barbitúrico, assim como a difenidramina (20 mg/Kg). TAYLOR (20) atribui este tipo de ação a depressores do SNC.

Ainda neste caso, entre o grupo tratado com suco e o tratado com a alquilamina não se observaram diferenças significativas nos resultados obtidos. Portanto, estes experimentos confirmaram a inferência anterior, ou seja, de que o suco, na dose utilizada, possui uma ação depressora do SNC, e que esta ação é qualitativa e quantitativamente comparável à da difenidramina. Todavia, pelos resultados obtidos até aqui, é impossível afirmar que o suco age pelos mesmos mecanismos que a difenidramina, ou seja, segundo BERGMAN & SPEALMAN, CHIAVEGATTO E e colab, NIEMERGERS e colab, MOORE, IZQUIERDO, GREEN, FAINGOLD e BARNETT e colab (2,6,18, 16,14,11,8,1), uma ação direta sobre os receptores H1 centrais acompanhada de uma ação indireta sobre o sistema dopaminérgico mediada por uma alteração no balanço histamina/dopamina existente no SNC.

Outros experimentos estão sendo desenvolvidos por nós no sentido de se verificar se tal mecanismo de ação se aplica aos efeitos depressores do SNC comprovados no presente trabalho, e serão objeto de publicações futuras, visto que perifericamente, o suco mostrou-se um potente antagonista de receptores H1 (17).

5. CONCLUSÃO

O presente trabalho nos permite concluir que:

1º) O suco extraído das folhas de *B. calycinum* (4,0 g/Kg, via intra-peritoneal) possui ação depressora inespecífica do SNC, evidenciada por uma diminuição da atividade locomotora e por uma potencialização do "sleeping-time" induzido por pentobarbital, em ratos.

2º) A ação depressora descrita, ao ser comparada com os efeitos provocados pela administração via intra-peritoneal de difenidramina (20 mg/Kg), nos mesmos modelos experimentais, não apresentam diferenças significativas, tanto o nível qualitativo quanto quantitativo em relação a depressão provocada pela alquilamina.

3º) A partir dos resultados do presente trabalho e da comprovação anterior de que o suco, nas mesmas condições experimentais (dose, via, animal), possui ação anti-H1 periférica, outros experimentos devem ser conduzidos no sentido de se verificar se o mecanismo de ação depressora do suco sobre o SNC envolve a sistema histaminérgico central.

6. AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. André Kaufmann; a Sra. Cinira dos S. Passos; a Profª Dra. Maria Martha Bernardi; ao Sr. Alvaro Franco de Andrade Júnior; ao Sr. Eduardo Navickas.

NASSIS, C.D.Z. et al. Study on the innespecific depressive action of the leaves juice of *Bryophyllum calycinum* Salisb (Crassulaceae) in the central nervous sistem. Comparison on with diphenhydramine effects. *Arq. med. ABC*, 14(2): 64-68, 1991.

Abstract: *Bryophyllum calycinum* Salisb (Crassulaceae) is an widely used specie by people of tropical and subtropical zones as a topical medicine in allergic cutaneous affections. In a previous work (NASSIS, 1991) pharmacological studies were conducted, showing that the plant juice has a strong anti-H1 activity in a peripheral level, in rats. In this experiments, we verified, apparently, a CNS depression, after the intra-peritoneal adiministration of the plant juice.

In the present work, our objective was the study of the depressive action of the juice, in order to demonstrate the significance of it.

Our experiments showed that the juice (4,0 g/Kg) inhibits the motor activity of rats, in an open-field, and potentiate the "sleeping-time" induced by barbiturates, in rats. Sijmilar results were obtained after administration of diphenhydramine (20 mg/Kg) which showed the need of more specific tests in order to verify if the mechanism of depressive action of the juice is related with the central histaminergic system.

Key Words: Plants, Crassulaceae, Central Nervous System, Diphenhydramine, Depression.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARNETT, A.; TABER, R.I.; ROTH, F.E. Activity of anti-histamines in laboratory antidepressant tests. *Int. J. Neuropharmacol.*, 8:73-9, 1969.
2. BERGMAN, J. & SPEALMAN, R.D. Behavioral effects of histamine H1 antagonists: comparison with other drugs and modification by haloperidol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 245:471-8, 1988.
3. BHATTARCHARYA, S.K. Central histamine receptors in learning and memory in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 183:925, 1990.
4. BROADHURST, P.L. Experiments in psychogenetics. In: EYSENK, H.J. *Experiments in personality*. London, Routledge and Kegan Paul, 1960. p. 31-61.
5. CARLINI, E.A. & BURGOS, V. Screening farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre diazepam e clorbenzepam. *Rev. Ass. Bras. Psiq.* 3:25-31, 1979.
6. CHIAVEGATTO, S.; BERNARDI, M.M.; SPINOSA, H.S. Effects of prenatal diphenhydramine administration on sexual behavior in rats. *Br. J. Med. Biol. Res.*, 22:729-32, 1989.
7. CORREA, M.P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro, Min. Agr., p. 343, 1975.
8. FAINGOLD, C.L. Antihistamines as central nervous system depressants. In: *Histamine H1 and anti-histaminics*. Ed. Rocha e Silva, M. New York, Springer-Verlag, p. 561-73, 1978.
9. GAIND, R.N. & GUPTA, R.L. Flavonoid glycosides from *K. pinnata*. *Planta Med.* 23:368-73, 1973.
10. GARCIA-LEME, J. & WILHELM, D.L. The effects of adrenalectomy and corticosterone on vascular permeability responses in the skin of the rat. *Br. J. Exp. Pathol* 56:401-7, 1975.
11. GREEN, J.P. Histamine receptors. In: *Psychopharmacology: the third generation of progress*. Ed. Meltzer, H.Y. New York, Raven Press. p.273-9, 1987.
12. HEGNAUER, R. *Chemotaxomie der Pflanzem*. Basel, Birkhauser, Chemotaxonomie der Pflanzen. 1966.
13. INVENTÁRIO das plantas medicinais do Estado da Bahia. Salvador, Governo do Estado da Bahia; 1979. p. 524-6.
14. IZQUIERDO, I. Not just a matter of taste. *TIPS* 10:129-30, 1989.
15. LIDBRINK, P.; JONSSON, G.; FUXE, K. The effect of imipramine-like drugs and anti-histaminic drugs on uptake mechanisms in the central noradrenaline and 5-hydroxy tryptamine neurons. *Neuropharmacol.* 10:5217-36, 1971.
16. MOORE, K.E. Behavioral effects of direct and indirect acting dopaminergic agonist. *Psychopharmacol. Bull.* 10:41-2, 1974.
17. NASSIS, C.Z. Estudo da atividade anti-histaminica do suco extraído das

folhas de *Bryophyllum calycinum* Salisb. (Crassulaceae) e de uma de suas frações. Dissertação (mestrado) apresentada ao Departamento de Farmacologia do ICB-USP. São Paulo, 1991.

18. NIEMERGERS, C.J.E.; AWOUTERS, F.H.L.; JANSSEN, P.A.J. The in vivo pharmacological profile of H₁ antagonists in the rat. *Drug. Dev. Res.* 2:559-66, 1982.

19. PATEL, N.V. Ayurveda. *The traditional Indian folk medicine The Art and the Science*. New York, Raven Press, p. 338-45, 1986.

20. TAYLOR, K.M. *Handbook of psychopharmacology*. v.3. New York, Plenum Press, 1975, p. 327-9.

21. VALLE, M.B. & LEITE, J.R. Efeitos psicofarmacológicos de preparações de *Passiflora edulis*. *Cienc. Cult.* 35:11-24, 1982.