

EFEITOS DO SUCO EXTRAÍDO DE FOLHAS DE *Bryophyllum calycinum* Salisb (Crassulaceae)*
SOBRE O APRENDIZADO DA ESQUIVA ATIVA, EM RATOS

Effects of the juice from the leaves of *Bryophyllum calycinum* salisb (Crassulaceae) on the active avoidance learning of rats

NASSIS, Cristina De Zotti**
BAGAROLLO, Cláudia Aparecida***
MONTEIRO, Nancy Caetano***
OZORES, Daniele Piaí***
YAMASHIRO, Kiyomi****
FREITAS, André Luíz Pires de*****

NASSIS, C.Z. et al. - Efeitos do Suco Extraído de Folhas de *Bryophyllum Calycinum* Salisb (Crassulaceae) Sobre O Aprendizado Da Esquiva Ativa, Em Ratos
Arq. Med. ABC, 18(1 e 2): 07 - 09, 1995.

Resumo: *B. Calycinum* Salisb (Crassulaceae) é uma espécie vegetal comum no Brasil e na Índia, onde é utilizada popularmente em processos alérgicos. Já foram comprovadas as ações anti-histátics H1 e central do suco das folhas da planta (NASSIS, at al. 1991 e 1992). Este trabalho teve por objetivo investigar as ações do suco e da difenidramina sobre ratos submetidos ao teste de esquiva ativa de duas vias. Os resultados mostraram que tanto o suco quanto a difenidramina aumentaram a resposta dos animais aos estímulos utilizados no teste, indicando que ambos aumentaram a atividade dopaminérgica central. Esse efeito de difenidramina pode ser explicado por ação anticolinérgica.

Unitermos: *B. Calycinum*, Sistema Dopaminérgico, Esquiva Ativa

1 - INTRODUÇÃO

O estudo da farmacologia de produtos naturais tem sido alvo de interesse crescente de pesquisadores e de Organismos Internacionais, como a Organização Mundial da Saúde (FARMAWORTH, 1995). Em países de flora variada e condições sócio-econômicas baixas, como o Brasil, o potencial terapêutico de produtos naturais é ainda maior que no Estados Unidos e Europa (CARLINI, 1983) sobretudo na área da psicofarmacologia.

As folhas de *B. calycinum* são utilizadas, no Brasil e na Índia (CORRÊA, 1989.; INVENTÁRIO, 1979; GAIND & GUPTA, 1973; NASSIS, 1991).

Os efeitos psicofarmacológicos das folhas da planta começaram a ser estudados por NASSIS IZQUIERDO, 1989; PATEL, 1986) popularmente, em manifestações de natureza alérgica. Tal utilização foi fundamentada em bases farmacológicas por NASSIS e cols. em 1991, que verificaram que o suco extraído das folhas da planta possui ação central.

No presente trabalho o objetivo foi o estudo da ação do suco das folhas de *B. calycinum* e da difenidramina sobre os parâmetros envolvidos na resposta condicionada de ratos durante o processo da esquiva ativa de duas vias.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Material

A planta foi colhida na região de Caraguatatuba, SP, e identificada no Instituto de Biociências da USP. As folhas foram submetidas ao processo de expressão mecânica seguida de filtração. O filtrado, de densidade 1,00004 g/ml (suco), foi utilizado nos experimentos.

2.1.2 - Animais

Foram utilizados ratos Wistar, machos, de peso corporal entre 250 e 275 g, fornecidos pelo Biotério Central do Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

2.1.3 - Drogas

Difenidramina (Merck); haloperidol (Tausсен); apomorfina (Sigma); NaCl (Merck).

2.2 - Metodologia empregada

2.2.1 - Medida da esquiva ativa de duas vias

Empregou-se a esquiva ativa de duas vias como técnica de condicionamento aversivo em ratos. A caixa de esquiva ativa (automatic Shuttle) dividida, no sentido transversal, em dois campos iguais, por meio de uma placa de madeira com 20cm de altura. Uma abertura de 10cm nessa placa permite a passagem do animal de um campo ao outro. O chão deste compartimento é constituído de barras metálicas, separadas umas das outras por 1cm que permite a passagem de corrente elétrica (com sistema alternador de polaridade) com intensidade controlável (0-1 mA); seis centímetros abaixo dessas barras existe um bandeja que recebe os excrementos do animal. A parede frontal da caixa é de acrílico transparente, de coloração acastanhada através da qual se pode visualizar o animal. Na parte superior da caixa existe uma tampa de acrílico fosco com trava de segurança. Essa caixa contém uma campainha fixada na porção superior traseira externa, que se comunica com o interior da caixa através de pequenos

*Trabalho realizado na Disciplina de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC e no Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

**Professora da Disciplina de Farmacologia da Faculdade de Medicina do ABC. Mestre em Farmacologia e Doutoranda de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

***Acadêmicas do terceiro ano do Curso de Graduação em Medicina da Faculdade de Medicina do ABC.

****Acadêmica do segundo ano do Curso de Graduação do ABC

*****Acadêmico do quarto ano do Curso de Graduação em Medicina da Faculdade de Medicina do ABC

orifícios; o som emitido é de volume (0-10 dB.) e frequência (0,06-1,60 Hz) controláveis. Na porção inferior da caixa, ao nível das barras do chão da mesma, existe um conjunto de células fotoelétricas, que detectam tanto a passagem do animal de um campo para outro, como em qual deles o animal se encontra.

Essa caixa opera automaticamente através de um sistema que programa os parâmetros do choque (intensidade e esquema de liberação), do som (duração, frequência, volume, número e tipo) e o período de habituação. O mesmo sistema registra o número total e a duração de cada choque bem como o número de cruzamentos.

O período de habituação consistiu em sessões diárias, de uma hora cada por cinco dias. Cada animal era submetido a uma só sessão, como se segue:

Em cada sessão experimental, cada animal foi introduzido em um dos campos da caixa, à qual se encontrava em um ambiente à meia luz, sendo utilizados os seguintes parâmetros:

- a) choque - intensidade: 0,5 mA
esquema aleatório de liberação
- b) som - duração: 0,5 segundos
frequência: 0,75 kHz
volume: 6 dB.
número: 50
tipo: com estímulo adicional

Ao término do período de habituação, foi emitido um som seguido do choque, dando início ao registro dos vários parâmetros. Assim, o animal, ao ouvir o som, podia atravessar para o outro campo da caixa, esquivando-se do choque fugindo desses durante sua liberação; quando o animal passava para esse outro campo, o mesmo processo iniciava-se do outro lado, até soar a 50a. campainha.

A partir do número de choques recebidos por cada animal (número de fugas) calculou-se números de esquivas de cada rato em 50 campainhas (50 números de choques). Com esses valores foram calculadas as porcentagens de esquivas e fugas de cada animal.

Com a finalidade de homogeneizar a situação experimental, o interior da caixa foi limpo com uma solução de álcool a 5%, imediatamente antes da introdução de cada animal. Todas as sessões foram conduzidas sempre no mesmo período do dia, entre 8:00 e 18:00 horas do período claro do ciclo dos animais.

Os animais foram divididos em cinco grupos (n=20), e tratados (IP), como se segue: trinta minutos antes do início dos experimentos descritos acima.

- Grupo 1 - Solução salina
- Grupo 2 - Suco (4,0 ml/kg)
- Grupo 3 - Difenidramina (20,0 mg/kg) DPD
- Grupo 4 - Haloperidol (10,0 mg/kg)
- Grupo 5 - Apomorfina (1,0 mg/kg)

2.2.2. - Métodos estatísticos

A análise de variância de Friedman (SIEGEL, 1956) seguida pelo teste de comparações múltiplas para Friedman (SNEDECOR, 1946; JOHNSON & LEONI, 1964) foi utilizada para comparar as possíveis diferenças nas

resposta, de esquivas, fugas e no número de cruzamentos interprovas dos procedimentos de esquiwa ativa de duas vias.

A probabilidade de $p < 0,05$ foi considerada capaz de revelar possíveis estatísticas entre os grupos.

3 - RESULTADOS

A Tabela 1 mostra as médias da porcentagens de esquivas e fugas de ratos submetidos a uma esquiwa ativa de duas vias, pré-tratados ou não com o suco, difenidramina, haloperidol ou apomorfina. Esses resultados indicam que o suco, a difenidramina e a apomorfina foram capazes de aumentar significativamente as porcentagens de esquiwa e fuga dos animais observados, enquanto que o haloperidol mostrou-se incapaz de tais porcentagens, no intervalo de tempo escolhido para observação (uma hora).

Tabela 1: Porcentagens de esquivas e fugas (média + desvio padrão) de ratos submetidos à esquiwa ativa de duas vias, pré tratados 30 minutos antes do início dos experimentos (n=20)

Grupos	% esquivas	% fugas
1-salina	83,90 + 7,40	6,81 + 1,62
2-suco 4,0 ml/kg	90,30 + 7,60	9,36 + 1,78
3-DPD 20,0 mg/kg	90,10 + 6,90	8,99 + 1,38
4-haloperidol 10,0mg/kg	72,60 + 6,10	4,49 + 1,10
5-apomorfina 1,0 mg/kg	92,40 + 7,80	9,84 + 1,92

* Diferenças significativas ao nível de 5%, entre cada grupo e o controle (grupo 1) Análise de variância de Friedmann

4 - DISCUSSÃO

Os parâmetros envolvidos na aquisição e manutenção de conhecimento (aprendizado e memória) são atualmente considerados fundamentais nos estudados efeitos das drogas sobre o sistema nervoso central (IZQUIERDO, 1989). Sabe-se que o balanço entre os sistemas acolinérgico e dopaminérgico, em nível central, tem papel preponderante sobre estes processo (BERNARDI & PALERMO-NETO, 1980; BRADLEY & ELKES, 1953; BRADLEY & BICHOLSON, 1962; CARLNI, 1983; COSTALL & NAYLOR, 1973; DE SOUZA & PALERMO-NETO, 1981 e 1983; MASON, 1984; ROBERTS Et. Cols.; SETLER e cols.; 1976)

Os resultados obtidos no presente trabalho mostram que, da mesma forma que a apomorfina, o suco das folhas de *B.calycinum* e a difenidramina foram capazes de aumentar o número de esquivas e o número de fugas dos animais trabalhados, enquanto que o haloperidol diminuiu tais valores. Portanto, nas condições de trabalho utilizadas, o suco e a DPD produzem aumento da atividade dopaminérgica. ASH & Schild (1996) descreveram uma atividade anticolinérgica dos anti-histamínicos H 1, como a difenidramina.. Parece claro, nesse caso, a inferência de que essa ação da difenidramina, interferindo no balanço dopamina (acetilcolina) é a responsável pelo aumento da atividade dos sistema dopaminérgico verificada nos experimentos aqui

descritos. Em relação ao mecanismo de ação do suco, entretanto, ainda não se pode afirmar nada, embora trabalhos anteriores (NASSIS & GIESBRECHT, 1992; NASSIS e cols., 1991) tenha sido demonstrada atividade anti-H1 do suco. Estudos posteriores envolvendo especificamente o sistema colinérgico serão úteis no esclarecimento de tal mecanismo.

5 - CONCLUSÕES

- 5.1. O suco das folhas de *B. calycinum* foi capaz de aumentar significativamente a resposta condicionada de ratos medida pelo modelo da esquiva ativa de duas vias.
- 5.2. A difenidramina promoveu aumento semelhante ao do suco.
- 5.3. O suco e a difenidramina mostram-se capazes de aumentar a atividade dopaminérgica central

NASSIS, C. Z. et al. Effects of the juice from the leaves of *Bryophyllum calycinum* salist (crassulaceae) on the active avoidance learning of rats. Arq. Med. ABC, 18(1 e 2)14 - 17, 1995

Resume: *B. calycinum* Salisb (crassulaceae) is a native specie both in Brazil and in Índia, where people use it in allergic processes. Antihistamine H1 and central actions of the plant juice were already assessed (NASSIS, 1991 and 1992).

The objective of this paper was to investigate the actions of both the juice and diphenhydramine in rats resing the two-ways active avoidance test. The results showed that both the juice and diphenhidramine elevated the rats responses to test stimuli, what is an indication of a dopaminergic central stimulation. In the case of diphenhydramine, this effect may be explained by its anticholinergic action.

KEY WORDS: *B. calycinum*, Dopaminergic System Active avoidance

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASH, A.S.S. & SCHILD, H.O Receptors medianting some actions of histamine. Br., J. Pharmacol., 27:427-439, 1996.
2. BERNARDINI, M.M. & PALERMO-NETO, J. Dopamina e função motora Ci. E Cult., 32:857-863, 1980.
3. BRADLEY, P.B. & ELKES, J., 1953 apud DeFEUDIS, F.V. Central cholinergic systems and behaviour, Academic Press, 1974. p.8
4. BRADLEY, P.B. & NICHOLSON, A.N., 1962 apud DeFEUDS, F.V. Central cholinergic systems and behaviour Lodon, Academic press, 1974. P.1 24.
5. CARLINI, E.A, efeitos psicotrópicos de plantas brasileiras: aspectos farmacológicos: parte IV. Ci. E Cult., 35:444-450, 1983
6. CORREA, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Mm. Agr., p. 343,1989.
7. COSTALL, B.; NAYLOR, R.J. On the mode of action of apomorphine. Europ.J. Pharmacol., 21:350-361,1973.
8. DE SOUZA, H & PALERMO-NETO, J. Do balanço entre os sistemas dopaminérgicos e colinérgicos centrais. Rev. Associ. Bras. Psic., 3:128-132,1981.
9. DE SOUZA, H. & PALERMO-NETO, J. A quantitative study of cholinergic-dopaminergic inteactions in the central nervous system. Pharmacology, 24:222-229, 1982.
10. DE SOUZA, H. & PALERMO-NETO, J.A biochemical study of cholinergic-dopaminergic interaction in the central nervous system Gen. Pharmacol., 16:533-536, 1985.
11. FARNSWORTH, N.R. Medicinal plants in therapy. Bulletin of the World Health Organizations, 63:965-981, 1985.
12. GAIND, R.N. 7 GUPTA, R.L. Flavonoid glycosids from *K. pinnata*. Planta Med. 23:368-373, 1973.
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 10:129-130, 1989.
15. JOHNSON, N. & LEONE, F. Statistics and experimental desing. In: Engeneering and physical scienses. New York, John Wiley & Sons, 1964. p. 241-244.
16. MASON, S.T. Catecholamines and behaviour. Cambridge, Cambridge University Press, 1984.
17. MOORE, K.E. Behavioral effects of direct and indirect acting dopaminergic agonists. Psychopharmacol. Bull.,10:41-42, 1974.
18. NASSIS, C.Z. Estudo da atividade anti-histamínica do suco extraído das folhas de *Bryophyllum calycinum* Salisb (crassulaceae) e de uma de suas frações. Dissertação (mestrado) apresentada ao Departamento de Farmacologia do I.C.B. - USP São Paulo, 1991.
19. NASSIS. C.Z.; HAEBISCH, E.M.A B., GIESBIECHT, A M. Antihistamine activy of *Bryophyllum calycinum*. Braz. J. Med. Biol. Res., 25:929-936, 1992.
20. PATEL, N.V. Ayurveda. the traticional Indian folk medicione. the Art and the Science. New York, Raven Press, p . 338-45, 1986.