

ESTUDO DA AÇÃO DO SUCO EXTRAÍDO DAS FOLHAS DE *Bryophyllum calycinum* Salisb. (Crassulaceae) SOBRE O SISTEMA GABAÉRGICO
Behavioral study of the action of the juice extracted from *Bryophyllum calycinum* Salisb. (Crassulaceae) on the Gabaergic System

AGOSTINHO, Alexandre Gomes *
 FREITAS, André Luiz Pires de *
 MIAGUCHI, Andrea Sayuri *
 PIERALINI, Celso *
 SACCO, Paula de Camargo Neves *
 NASSIS, Cristina de Zotti **

AGOSTINHO, A.G. et al. Estudo da ação do suco extraído das folhas de *Bryophyllum calycinum* Salisb. (Crassulaceae) sobre o sistema GABAérgico. *Arq. med. ABC*, 15(2):14-18, 1992.

Resumo: *Bryophyllum calycinum* Salisb. (Crassulaceae) é uma planta largamente utilizada em regiões tropicais e subtropicais. Seu principal uso consiste como uma medicação tópica em afecções cutâneas de natureza alérgica.

(NASSIS, 1991) (16) demonstrou ser o suco extraído desta planta um potente antagonista dos receptores H-1 a nível periférico em ratos.

Um trabalho subsequente (NASSIS et al, 1991) (17) mostrou que o suco extraído da Crassulaceae tem uma ação depressora no SNC. O presente estudo teve por objetivo a investigação de uma eventual ação GABAérgica do suco. A partir dos resultados obtidos pudemos concluir que o suco não apresenta atividade sobre o sistema GABAérgico.

Unitermos: Plantas, Crassulaceae, Sistema Gabaérgico.

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 às 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 que os originários de síntese.

Em termos de SNC, CARLINI & BURGOS (3) ressaltam a importância do estudo farmacológico de produtos derivados de plantas, com intuito de se obter 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 (5,11,18), onde se encontra ampla utilização em medicina popular,

em caso de manifestações cutâneas de natureza alérgica, como, por exemplo, picadas de insetos.

A planta possui ampla sinonímia científica: *Bryophyllum pinnatum* Kurtz; *Cotyledon calycina* Soland.; *Coledon rhizophilla* Roxb.; *Crassovia floripendula* Commers.; *Kalanchoe pinnata* Pers. (5). Popularmente, também existe uma imensa nomenclatura para a espécie: folha da fortuna, folha da costa, árvores da fortuna, erva da corta, coirama, courama, diabinho, folha da vida, folha de pirarucu, folha grossa, fortuna milagre de São Joaquim, orrelha de monge pirarucu, roda de fortuna, saião (5,11).

A pesquisa farmacológica envolvendo *Bryophyllum calycinum* tem sido realizada, até o presente momento, com base nos principais usos populares de seu uso (5,11), ou seja, como anti-pruriginoso.

Devido a este fato, foi investigada comprovada em ratos a ação anti-histamínica (H1) periférica do suco extraído das folhas de *Bryophyllum calycinum* (16). O mesmo trabalho demonstrou as principais características do bloqueio exercido sobre as ações da histamina medida por receptores H1 em dois modelos: aumento da permeabilidade vascular e modificação na contratilidade desencadeada em íleo de cobaio (16), sendo o antagonismo entre o suco e a histamina 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 *Bryophyllum calycinum* sobre o SNC.

Em um trabalho prévio (NASSIS et al, 1991) (17) foi comprovada uma ação depressora central associada ao

* Acadêmicos do 3º ano da FMABC.

** Professora da Disciplina de Farmacologia da FMABC. Mestre em Farmacologia da Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

suco da planta, ação esta comparável à difenidramina, um anti-H1 clássico. Entretanto, os métodos utilizados foram inespecíficos, não permitindo a identificação de um mecanismo de ação relacionado ao suco.

O presente trabalho consiste numa continuação do anterior, e tem por objetivo investigar a ação do suco das folhas de *Bryophyllum calycinum* e da difenidramina sobre o sistema GABAérgico de neuromodulação.

Tal sistema é comprovadamente (GILLIN et al, 1990) (9) importante nos mecanismos de sono/vigília e outros comportamentos relacionados a depressão do SNC.

Os métodos escolhidos são considerados específicos (CARLINI & BURGOS, 1979; VALLE & LEITE, 1982) (3,20), para estudos envolvendo o sistema GABAérgico.

A inclusão da difenidramina teve por finalidade no presente trabalho, verificar semelhanças e diferenças a nível de resultados entre os efeitos do suco e da etanolamina sobre o sistema GABAérgico. Em trabalhos futuros pretende-se demonstrar a existência de uma ação anti-histamínica central do suco da folha de *Bryophyllum calycinum*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL ENSAIADO

A planta foi colhida da região de Caraguatatuba, São Paulo. As folhas foram submetidas ao processo de expressão mecânica a posterior filtração em papel Whatman qualitativo. O filtrado (suco) foi utilizado nos experimentos aqui descritos.

2.2. ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar machos, de peso corporal entre 220 a 250g, provenientes do Biotério do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

2.3. DROGAS

Diazepam (Roche); Pentilenotetrazol (Serva); Cloreto de Sódio (Merck); Difenidramina (Sigma).

2.4. ENSAIOS FARMACOLÓGICOS

2.4.1. Medida da Potencialização "Sleeping-time" induzido por Benzodiazepínicos

O método utilizado encontra-se descrito em CARLINI & BURGO, 1979 (3). Os animais foram divididos em três grupos (n=20), e tratados por via intraperitoneal da seguinte forma:

- Grupo Controle: solução salina (NaCl 0,9%)
- Grupo Difenidramina: difenidramina 20,0mg/Kg
- Grupo suco: suco 4,0/Kg

Trinta minutos após o tratamento, os animais receberam, também intraperitonealmente, 10,0mg/Kg de diazepam. Foi então determinado o tempo decorrido em

minutos, entre a perda do reflexo postural dos animais e sua recuperação.

2.4. ENSAIOS FARMACOLÓGICOS

2.4.1. Medida de Potencialização "Sleeping-time" induzido por Benzodiazepínicos.

O método utilizado encontra-se descrito em CARLINI & BURGOS, 1979 (3). Os animais foram divididos em três grupos (n=20), e tratados por via intraperitoneal da seguinte forma:

- Grupo Controle: solução salina (NaCl 0,9%)
- Grupo Difenidramina: difenidramina 20,0mg/kg
- Grupo Suco: suco 4,0g/kg

Trinta minutos após o tratamento, os animais receberam, também intraperitonealmente, 10,0mg/kg de diazepam. Foi então, determinando o tempo em minutos, entre perda do reflexo postural dos animais e sua recuperação.

2.4.2. Medida do Limiar Convulsivo

Optou-se pela utilização do método proposto por PURPURA et al, 1972.

Foram utilizados três grupos de animais (n=15), tratados da forma descrita no item 2.4.1. Um grupo (n=15) tratado com diazepam (10,0mg/Kg) foi incluído como controle positivo.

Trinta minutos após o tratamento, os animais receberam por via intraperitoneal 7,5mg/Kg de pentilenotetrazol. Foi medido o tempo necessário para o início das convulsões tônico-clônicas.

2.5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

Os dados obtidos segundo os dois protocolos experimentais apresentados foram submetidos a testes paramétricos; havendo resultados significativos na análise de variância, foi realizado o teste de contraste entre médias. O nível crítico para rejeição da hipótese de nulidade adotado foi 5% (p,05). Os asteriscos foram utilizados para indicar diferenças significativas entre cada grupo tratado e o grupo controle.

Tabela 1

Tempo de sono (minutos) induzido por diazepam (10,0mg/Kg, em ratos, pré-tratados ou não (n=20). Os resultados estão expressos em termos de média +/- tempo erro padrão da média.

Grupo	Tempo de sono (minutos)
Controle	45,2 +/- 5,8
Suco (4,0g/Kg)	42,9 +/- 4,3
Difenidramina (20,0mg/Kg)	44,3 +/- 5,5

3. RESULTADOS

3.1. MEDIDA DA POTENCIALIZAÇÃO DO "SLEEPING-TIME" INDUZIDO POR BENZODIAZEPÍNICO

A tabela 1 mostra os resultados obtidos, para cada grupo, em termos de tempo de sono, após a administração do diazepam. A análise de tais dados não indicou diferenças estatisticamente significativas entre o grupo "suco" e o controle e entre o grupo "difenidramina" e o controle.

3.2. MEDIDA DO LIMAR CONVULSIVO

Os resultados obtidos neste experimento (tabela 2) mostram que tanto o suco quando a difenidramina, nas condições descritas, foram ineficazes em aumentar o tempo de latência para o início das convulsões induzidas por pentilenotetrazol.

Tabela 2

Tempo de latência (minutos) para o aparecimento de convulsões induzidas pelo pentilenotetrazol (7,5mg/Kg) em ratos pré-tratados ou não (n=15). Os resultados estão expressos em termos de média +/- erro padrão da média.

Grupo	Tempo de latência (minutos)
Controle	1,28 +/- 0,21
Suco (4,0g/Kg)	1,35 +/- 0,29
Difenidramina (20,0mg/Kg)	1,30 +/- 0,25
Diazepam (10,0mg/Kg)	10,0 *

Resultados significativos ao nível de 5%.

4. DISCUSSÃO

É fato comprovado a presença de neuropeptídeos no hipotálamo e em outros núcleos cerebrais (COSTA & GUINOTTI, 1987) (7). Embora o papel fisiológico desses compostos não esteja ainda totalmente esclarecidos, vários modelos experimentais já demonstraram, em certos neurônios, que agem como co-transmissores, (COSTA et al, 1983) (6), ou seja, participam da transmissão múltipla de sinais que ocorre nessas células.

Do ponto de vista neuroquímico, os neurônios podem ser classificados em quatro grupos, de acordo com o tipo de contaminação que apresentam (KELLY, 1985; KRYGER et al, 1989; WILLIAMN & KARACAN, 1986) (13,14,21). O grupo 1 compreende a transmissão por vários compostos derivados do mesmo pró-hormônio (Beta-endorfina + ACTH, por exemplo); o grupo 2 reúne os neurônios que contêm dois ou mais neuropeptídeos originários de genes diferentes (por exemplo, substância P + TRH); no grupo 3 classificou-se

os neurônios cuja transmissão é realizada por neuropeptídeos e não peptídeos (exemplo: 5 HT e TRH); finalmente, os neurônios do grupo 4 contêm vários não-peptídeos como neurotransmissores. Os exemplos mais importantes dentro deste grupo são os neurônios contendo GABA+dopamina ou GABA+5HT.

Os neurônios GABAérgicos são considerados como fundamentais nos mecanismos sono-vigília, e o GABA, o mais importante dos aminoácidos inibitórios (GILLIN et al, 1990) (9). O sistema GABAérgico de neurotransmissão é atualmente bem conhecido (GILLIN et al, 1990) (9) e compreende receptores específicos (GABAa e GABAb), que funcionam por intermédio da abertura e do fechamento de canais iônicos.

Com o intuito de se estudar a influência do sistema GABAérgico na depressão da SNC produzida pelo suco das folhas de *Bryophyllum calycinum*, em ratos, foi elaborado um protocolo experimental, composto de duas partes: a primeira, visando a verificação do efeito do suco sobre a resposta induzida por um antagonista farmacológico específico dos receptores GABAérgicos, o diazepam. A segunda, como objetivo de estudar a influência do suco sobre efeito convulsivante de um antagonista farmacológico de GABA, o pentilenotetrazol.

Os resultados apresentados na tabela 1 demonstram que, nas condições de trabalho utilizadas, o suco mostrou-se ineficaz em aumentar o "sleeping-time", induzido por diazepam. O mesmo pode ser afirmado em relação à difenidramina, na dose utilizada.

Em relação à tabela 2, pode-se concluir que tanto o suco quanto a difenidramina foram incapazes de impedir o efeito do pentilenotetrazol sobre os receptores GABAérgicos no tronco encefálico. Este conjunto de resultados é suficiente para afirmar que a ação depressora do suco e da difenidramina relatada em trabalho anterior (NASSIS et al, 1991) (17) não é devida a um componente GABAérgico, fortalecendo a hipótese de uma via de modulação independente do aminoácido. Segundo GREN, 1987; KELLY, 1985; WILLIAMS & KARACAN, 1986; BERGMAN & SPEALMAN, CHIAVEGATTO et al, NIEMERGERS, MOORE, IZQUIERDO, FAINGLD e BARNETT et al (10,13,21,2,4,18,15,12,8,1), é uma lícita a suposição de uma via moduladora histaminérgica atuando neste caso, o que reforça nossa proposição inicial de uma ação anti-histamínica central do suco. Entretanto, experimentos envolvendo outros sistemas e outros balanços devem ser conduzidos para demonstrar a validade ou não de tal hipótese.

5. CONCLUSÕES

Do presente trabalho podemos inferir que:

1º - O suco não apresentou efeitos sobre o sistema GABAérgico, em ratos, nas condições de trabalho descritas.

2º - A difenidramina, nas mesmas condições experimentais, também se mostrou inativa frente ao sistema de neuromodulação estudado.

AGOSTINHO, A.G. et al Behavioral study of the action of the juice extracted from *Bryophyllum calycinum* Salisb. (Crassulaceae) on the Gabaergic System. *Arq. med. ABC*, 15(2):14-18, 1992.

Abstract: *Bryophyllum calycinum* Salisb. (Crassulaceae) is a widely used plant in tropical and subtropical areas. Its main usage concerns the healing of some hypersensitivity cutaneous affections.

(NASSIS, 1991) (16) studied the pharmacologic properties pointing out that the extracted juice from the plant leaves is a potent antagonist of the peripheral H1 receptors in rats. A subsequent study (NASSIS et al, 1991) (17) pointed out that the Crassulaceae juice has depressive action on the CNS.

The aim of the present study is to verify a possible action of this juice on the Gabaergic system.

From the results, we can conclude that the juice does not show only activities on the Gabaergic system.

Keywords: Plants, Crassulaceae, Gabaergic system.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARNETT, A.; TABER, R.I.; ROTH, F.E. Activity of anti-histamines in laboratory antidepressant tests. *In: J. Neuropharmacol.*, 8:73-9, 1969.
2. BERGMAN, J. & SPEALMAN, R.D. Behavioral effects of histamine H-1 antagonists: comparison with other drugs and modification by haloperidol. *J. Pharmacol.*, 183:925, 1990.
3. CARLINI, E.A. & BURGOS, V. Screening farmacológico e ansiolítico: metodologia laboratorial e comparação entre diazepam e clorobenzepam. *Rev. Ass. Bras. Psiq.*, 3:25-31, 1979.
4. CHIAVEGATTO, S.; BERNARDI, M.M.; SPINOSA, H.S. Effects of prenatal diphenhydramine administration on sexual behavior in rats. *Br. J. Med. Biol. Pres.*, 22:729-32, 1989.
5. CORREA, M.P. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro, Min. Agr., p. 343, 1975.
6. COSTA, E.; FORCHETTI, C.M.; GUINOTTI, A.; WISE, C.M. *Dale's Principle and Communications between neurons*. Oxford, Pergamon Press, 1983, p. 161-77.
7. COSTA, E.; GUINOTTI, A. Neuropeptides as cotransmitters modulatory effects at GABAergic synapses. *In: MELTZER, H.Y. Psychopharmacology: The Third generation of Progress*. New York. Raven Press. 1987, p. 425-34.
8. FAINGOLD, C.L. Antihistamines as central nervous system depressants. *In: Histamine II and anti-histaminics*. Rocha e Silva, New York, Springer-Verlag, 1978, p. 561-73.
9. GILLIN, J.C.; BYERLEY, W.F. The diagnosis and management insomnia. *N. Engl. J. Med.*, 322:239, 1990.
10. GREN, J.P. Histamine receptors. *In: MELTZER, H.Y. Psychopharmacology: The Third generation of Progress*. New York. Raven Press. 1987, p. 273-9.
11. INVENTÁRIO das plantas medicinais do Estado da Bahia. Salvador, Gov. Est. Bahia, 1975, p. 524-26.
12. IZQUIERDO, I. Not just a matter of taste. *TIPS* 10:129-30, 1989.
13. KELLY, D.D. Sleep and dreaming. *In: KANDEL, ER & SCHARTZ, J.H., Principles of neurosciences*, 2ª ed. New York, Elsevier, 1985.
14. KRYGER, M.M.; ROTH, T.; DEMENT, W.C. *Principles and practices of sleep medicine*. Philadelphia, W.D. Saunders, 1989, p. 85-92.
15. MOORE, K.E. Behavioral effects of direct and indirect acting dopaminergic agonists. *Psychopharmacol. Bull.*, 10:41-2, 1974.
16. NASSIS, C.Z. Estudo da atividade 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.
17. NASSIS, C.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 de difenidramina. *Arq. Med. ABC*, 14(2):64-68, 1991.
18. NIEMERGS, C.J.E.; AWOUTERS, F.H.L.; JANSSEN, P.A.J. The in vivo pharmacological profile of H-1 antagonists in the rats. *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. VALLE, M.B. & LEITE, J.R. Efeitos psicofarmacológicos de preparações de *Plassifora edulis*. *Cienc. Cult.*, 35:11-24, 1982.
21. WILLIAMS, R.L.; KARAGAN, I. *Pharmacology of sleep*. New York, John Wiley, 1986, p. 124-28.

AGRADECIMENTOS

Álvaro Franco A. Júnior - técnico do laboratório de
Farmacologia da FMABC
Cristina O. Nassis - orientadora do trabalho
Marcelo Abou Anni - lojas HAVEQUE
Rodolfo Grabner - fotografias

Recebido em 20/08/92
Aprovado em 29/09/92

Dra. Luiza Keiko Matsuka Oyafuso
Dermatologista

Al. Guatás, 1345 - Planalto Paulista
São Paulo - CEP 04053
Tel. (011) 577-4475

Editoração Eletrônica
Teses, Trabalhos, Curriculum Vitae

Tel. 448-9839