



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DO EFEITO NEUROPSICOFARMACOLÓGICO DO SUCO DOS FRUTOS DE *Passiflora edulis* VARIEDADE *flavicarpa* Degener EM CAMUNDONGOS.

ANA PAULA RAMOS COSTA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a conclusão do mesmo.

Orientador: Prof. Dra. Thereza Christina M. De Lima

FMC-CCB

Florianópolis – SC

Agosto/2009

*...Ana briga por amor  
Briga pela flor e pelos animais...*

(autor desconhecido)

## **Agradecimentos**

A Deus, por ter me dado a família que eu tenho, saúde e interesse para seguir minha jornada.

Aos meus pais, meus primeiros e eternos educadores, que não mediram esforços para tornar possível meu sonho. Por serem os melhores pais que alguém possa querer.

À minha avó Mariinha, por ter auxiliado nos custos dos meus estudos e por ter sido sempre a minha vózinha.

Aos meus irmãos, por serem meus irmãos, meus amigos e meus segundos pais.

À minha tia Ana, por não me deixar desistir quando o sonho parecia um pesadelo.

Às minhas amigas que acompanharam este sonho nascer: Alice, Camila, Nina Rosa, Michelle e Elise.

Aos amigos que fiz vivendo este sonho: Ligia, Natália, Mari, Marcelo, Loli, Fêr, Dé e Nina.

Aos meus bichos, que sempre alimentaram o meu amor pelo estudo da vida e por serem os melhores amigos do mundo.

Ao professor Silvio Sato, por ter feito eu me apaixonar pela biologia.

Aos meus professores da graduação, por terem me dado a certeza daquilo que eu escolhi para a vida.

À professora Daniela de Toni, por ter sido muito mais que uma professora.

Ao professor Ademir Reis, pela melhor disciplina da botânica.

Ao professor Paulo Horta, por ensinar mais que biologia.

Ao professor Paulo Simões-Lopes, por ter sido o narrador dos meus sonhos zoológicos.

À professora Natalia Hanazaki, por ter mostrado que eu ocupo um lugar no mundo e sou responsável por isso.

Ao professor Kay Saalfeld, por ter me mostrado que ser biólogo é ser questionador.

Aos meus ex-colegas do Laboratório de Genética do Comportamento, que contribuíram em grande parte da minha formação científica.

Ao Laboratório de Neurofarmacologia, local que escolhi e fui aceita para terminar meu curso e seguir minha carreira acadêmica.

Aos meus colegas do lab, por tornarem tudo mais divertido.

À Silvana Zucolotto, pelos extratos e por ser sempre muito solícita.

À Rebeca Marques dos Santos, por estar sempre disposta a ajudar.

Ao Dr. Filipe Silveira Duarte, pela consultoria dada em momentos tão importantes.

Às minhas colaboradoras perfeitas, Andressa Gazola e Evelyn Santos, por terem quebrado meu galho inúmeras vezes e por serem pessoas maravilhosas.

À Ligia Moreiras Sena, por ter me apresentado o maracujá, pela co-orientação ao longo da execução deste trabalho e pelas dicas nas madrugadas.

À minha orientadora, Dra. Thereza Christina Monteiro de Lima, pela orientação e por ser uma pessoa acessível, doce e atenciosa.

## Resumo

O Brasil é o primeiro produtor mundial de Maracujá, com uma área plantada de 35.000 ha, gerando aproximadamente 485.000 toneladas de frutos. O fruto é de grande importância econômica, de onde se extrai o suco concentrado e os subprodutos da industrialização do suco tais como cascas, polpa e sementes, utilizados na alimentação animal. Além disso, um grande número de espécies do gênero *Passiflora* é utilizado em sistemas terapêuticos tradicionais em vários países. Em geral, o efeito medicinal calmante é obtido da infusão das folhas e flores e da polpa do fruto (suco) e, apesar disso, a maioria dos estudos científicos na área é feita somente com extratos das folhas dessas espécies. Com base nisso, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito do suco da espécie mais comercializada no país (*Passiflora edulis* flavicarpa) no Sistema Nervoso Central (SNC) de camundongos. Os camundongos foram divididos em 5 grupos experimentais (7-8 animais/tratamento): controle positivo (droga-padrão para o modelo), 50 mg/kg, 100 mg/kg e 300mg/kg do suco de *Passiflora edulis* e solução controle (salina 0,9%). Os animais foram avaliados nos seguintes testes comportamentais: Transição Claro-Escuro (TCE), Campo Aberto (CA), Sono Etéreo (SE), Convulsões Induzidas por Pentilenotetrazol (PTZ) e Suspensão pela Cauda (SC). Utilizamos o teste da TCE para avaliar um possível efeito tipo-ansiolítico do suco. Para excluir qualquer prejuízo motor, após a observação no teste da TCE, os animais passaram pelo teste do CA. Os resultados demonstraram que o suco na dose de 50 mg/kg possui efeito significativo do tipo ansiolítico. Além disso, os resultados obtidos nos testes do CA e do SE sugerem um possível efeito estimulante, provavelmente por desinibição do SNC. No teste das convulsões induzidas por PTZ o suco não foi capaz de diminuir a severidade e a letalidade dos animais, apesar disso, parece agir na proteção do SNC contra as convulsões. Já no teste da SC não obtivemos resultados significativos, o suco não parece, portanto, ter efeito do tipo antidepressivo. Para melhor avaliar os efeitos do suco, faz-se ainda necessária a utilização de outros modelos animais de ansiedade e comportamentos relacionados.

**Palavras-chave:** Ansiedade, Maracujá, *Passiflora edulis*, Plantas Medicinais.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>8</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>14</b>
2.1 Gerais	14
2.2 Específicos	14
<b>3. JUSTIFICATIVA</b>	<b>14</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>15</b>
4.1 Material vegetal	15
4.2 Preparo do suco	15
4.3 Animais	15
4.4 Condições Gerais	16
4.5 Testes Comportamentais	16
4.5.1 Teste da Transição Claro-Escuro	16
4.5.2 Teste do Sono Induzido por Éter Etílico	17
4.5.3 Teste das Convulsões Induzidas por Pentilenotetrazol	18
4.5.4 Teste da Suspensão pela Cauda	18
4.6 Análise Estatística	18
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>19</b>
5.1 Uma hora após o tratamento	19
5.1.1 Teste da Transição Claro-Escuro	19
5.1.2 Teste do Campo Aberto	20
5.1.3 Teste da Suspensão pela Cauda	21
5.2 Duas horas após o tratamento	22
5.2.1 Teste da Transição Claro-Escuro	22
5.2.2 Teste do Campo Aberto	23

5.2.3 Teste do Sono Induzido por Éter Etílico	23
5.2.4 Teste das Convulsões Induzidas por Pentilenotetrazol	24
5.2.5 Teste da Suspensão pela Cauda	26
<b>6. DISCUSSÃO</b>	<b>27</b>
<b>7. CONCLUSÕES</b>	<b>32</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>34</b>

## 1 – Introdução

A utilização de plantas medicinais, considerada em tempos remotos como uma manifestação divina, é tão antiga quanto a própria civilização (Yamada, 1998). A documentação mais antiga conhecida sobre o uso de plantas data de mais de sessenta mil anos, e foi descoberta por estudos arqueológicos em ruínas do Iraã (Rezende e Cocco, 2002).

Em antigos hieróglifos egípcios e manuais chineses de fitoterapia podemos encontrar a descrição do uso extensivo de produtos naturais com fins medicinais e ainda hoje a natureza continua a ser uma grande fonte de medicamentos em todo o mundo (Polunin e Robbins, 1992).

No Brasil, as plantas eram usadas pelos povos indígenas em rituais de cura e também os africanos recém chegados faziam sua utilização em rituais religiosos (Ferro, 2006). Em nosso país, 20% de nossa população consome 63% dos medicamentos disponíveis no mercado; o restante, ou seja, 80% da população de nosso país encontra nos produtos naturais, especialmente nas plantas medicinais, sua única fonte de terapia (Di Stasi et al., 1996).

Com a Conferência de Alma Ata, em 1978, a Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece o uso das plantas medicinais e posteriormente indica o aproveitamento delas como parte do Programa Saúde Para Todos no Ano 2000; recomendando, inclusive, a realização de mais estudos e a propagação do uso das plantas medicinais regionais como uma maneira de diminuir custos dos programas de saúde pública (Yamada, 1998).

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos, o que explica o fato de ainda hoje, nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, encontrarmos plantas medicinais sendo comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (Maciel et al., 2002).

As plantas são, portanto, fontes importantes de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de medicamentos (Nodari e Guerra, 2003).

A este respeito, há cem anos várias drogas eram derivadas de plantas; as drogas sintéticas somente apareceram no mercado no final do Século XIX e, apesar



de todo o avanço no desenvolvimento de drogas sintéticas, os fármacos naturais nunca perderam totalmente a sua importância, sendo que, recentemente, no final do Século XX, eles conquistaram novamente popularidade (Wichtl, 2004).

O mercado de medicamentos com formulação fitoterápica é um mercado multibilionário e está crescendo rapidamente (Calapai e Caputi, 2007). Globalmente, parece controlar 30% do mercado de drogas e lucra quase 1 bilhão de dólares todos os anos, dados estes encontrados em países industrializados (Tsuji e Tsutani, 2008). Entretanto, este cenário não se repete em países em desenvolvimento, onde, paradoxalmente, concentra-se grande parte das plantas com potencial medicinal (Oricha, 2009).

Apesar disto, durante as duas últimas décadas a pesquisa em produtos naturais experimentou um declínio global, isso por causa da introdução da Síntese de Alto Rendimento e Química Combinatória com suas promessas de uma fonte aparentemente inesgotável de bibliotecas de compostos, desviando o interesse da indústria farmacêutica pelos produtos naturais (McChesney et al., 2007).

Com isso, a maioria das espécies de plantas não é investigada química e biologicamente com detalhes, apesar de todo conhecimento de técnicas analíticas disponíveis e, por isso, até mesmo plantas medicinais bem conhecidas, necessitam de mais estudos pré-clínicos e clínicos (Phillipson, 2003).

Inúmeras espécies vegetais foram incorporadas à medicina tradicional de modo empírico, seguido de avaliação, mesmo que rústica e grosseira, dos sinais e sintomas que apareciam após seu consumo, até a seleção, pela qualidade de respostas, se uma determinada espécie lhe seria útil ou não (Di Stasi, 1996).

Albuquerque e Hanazaki (2006) dividiram as estratégias de estudos com plantas medicinais em quatro abordagens: 1) randômica, a qual usa a coleta ao acaso de plantas para estudos fitoquímicos e farmacológicos; 2) etológica, que utiliza a observação de primatas na natureza, analisando suas possíveis auto-medicações; 3) quimiotaxonômica, que seleciona espécies de uma família ou um gênero para as quais já haja conhecimento científico de, pelo menos, uma espécie; e por fim, 4) os estudos etnodirigidos, que consistem na seleção de espécies de acordo com o uso de populações específicas e em determinados contextos de uso.

A seleção de plantas com possível poder farmacológico depende de diversos fatores que incluem: conteúdo químico, toxicidade e uso tradicional pela população em diferentes culturas, que é conhecido como etnobotânica, ou mais especificamente como etnofarmacologia (Rates, 2001). Esta constitui um desdobramento da etnobotânica e estuda os remédios simples ou compostos, produzidos a partir de vegetais, tendo sempre o objetivo de corrigir problemas de saúde, tanto da ordem física, como mental ou espiritual (Camargo, 2003). Levantamentos etnofarmacológicos realizados nas matas brasileiras são instrumentos promissores na descoberta de novas drogas, uma vez que nosso país possui altos índices de biodiversidade e endemismo associados a um processo de miscigenação intenso que resultou numa riqueza considerável de conhecimentos sobre a sua flora (Rodrigues e Carlini, 2003). As pesquisas com plantas medicinais envolvem investigações da medicina tradicional e popular (etnobotânica); isolamento, purificação e caracterização de princípios ativos (química orgânica: fitoquímica); investigação farmacológica de extratos e dos constituintes químicos isolados (farmacologia); transformações químicas de princípios ativos (química orgânica sintética); estudo da relação estrutura/atividade e dos mecanismos de ação dos princípios ativos (química medicinal e farmacologia) e, finalmente, a operação de formulações para a produção de fitoterápicos (Maciel et al., 2002).

Pesquisas realizadas já identificaram mais de 350 mil espécies vegetais, o que permite uma ampla variedade aos possíveis usos medicinais. No entanto, apenas dez mil têm algum uso medicinal conhecido (Rezende e Cocco, 2002). Entre estas estão as espécies que compõem o gênero *Passiflora*, que apesar do amplo uso popular, são ainda pouco estudadas do ponto de vista científico.

A maioria das espécies que compõem a família Passifloraceae surgiu na América tropical (Souza e Meletti, 1997). São pertencentes à Ordem Malpighiales, Classe Magnoliopsida e Filo Magnoliophyta (Costa e Tupinambá, 2005). Dentro desta família está o gênero *Passiflora* e estima-se que ele possua em torno de 500 espécies (Dhawan et al., 2004; Hickey e King, 1988; Rendle, 1959; Tommonaro et al., 2007). Mais de 150 espécies são nativas do Brasil, das quais cerca de 60 produzem frutos que podem ser consumidos *in natura* ou na forma de sucos, refrescos, doces e licores (Sato et al., 1992)

O nome dos frutos, maracujá, é de origem tupi-guarani e significa “alimento em forma de cuia” (Meletti, 2000). O Brasil é o maior produtor mundial, com uma área plantada de 35.000 ha, gerando 485.000 toneladas de frutos/ano (Cavichioli et al., 2006). Apesar da diversidade de espécies presente no país, a espécie *Passiflora edulis* variedade *flavicarpa* Degener é a mais cultivada (95% dos pomares), devido à qualidade de seus frutos, vigor, produtividade e rendimento em suco (Meletti et al., 2005).

O maracujazeiro tem grande importância pelas qualidades gustativas de seus frutos e pelas qualidades farmacodinâmicas e alimentares do seu suco, cascas e sementes (Dos Santos et al., 1999). A maior importância econômica do fruto de maracujá está no produto industrializado, de onde se extrai o suco (Manica, 1981). Porém outros alimentos são elaborados a partir do fruto como, por exemplo, a polpa, para produzir doces, refrescos, xaropes, sorvetes e geléias, entre outros produtos (Oliveira et al., 2002, Meletti e Molina, 1999). No Brasil, o consumo *per capita* de maracujá passou de 0,284 kg em 1987 para 0,96 kg em 1996, representando um aumento de 238% em nove anos (IBGE, 1999).

Um grande número de espécies de *Passiflora* é utilizado há muito tempo em sistemas terapêuticos tradicionais de vários países (Dhawan, 2004). Sementes de *Passiflora* encontradas em sítios arqueológicos na Virgínia fornecem fortes evidências do uso pré-histórico dos frutos pelos antigos povos indígenas (Gremillion, 1989). Entretanto, o uso medicinal de espécies do gênero foi relatado pela primeira vez apenas em 1569 pelo pesquisador espanhol Monardus, através de suas observações no Peru (Taylor, 1996).

A espécie *Passiflora caerulea*, nativa do Brasil, é a mais vigorosa e seus frutos são utilizados tradicionalmente com a finalidade sedativa e ansiolítica (Hickey e King, 1988; Kirtikar e Basu, 1975; Rendle, 1959). Além disso, no oeste da Índia, no México, Holanda e América do Sul, suas raízes são utilizadas como sedativo e vermífugo (Dhawan et al., 2004). Já na Itália esta espécie é utilizada como anti-espasmódico e sedativo. Nas Ilhas Maurício, a tintura e o extrato da planta têm sido utilizados para combater a insônia, sendo a raiz utilizada como diurético (Dhawan et al., 2004). Na Nigéria, a infusão das folhas de *Passiflora foetida* é utilizada no tratamento de histeria e insônia (Nwosu, 1999). Essa espécie é muito cultivada

também na Índia, onde suas folhas são aplicadas na cabeça para o alívio de tonturas e dores de cabeça. No Brasil, a espécie é utilizada na forma de loções contra erisipela e outras doenças de pele (Chopra et al., 1944 apud Dhawan et al., 2004). A *Passiflora laurifolia* é usada no tratamento de palpitações cardíacas causadas por nervosismo em Trinidad-Tobago (Seaforth et al., 1983).

A espécie *Passiflora incarnata* é utilizada na medicina popular em diversas partes do mundo: na Índia, o extrato de suas folhas é utilizado contra a disenteria e contra a hipertensão, e seus frutos são ingeridos para o melhor funcionamento do intestino; já na América do Sul, bebe-se o chá das folhas como calmante, contra insônia, dores estomacais, epilepsia, tumores intestinais e hipertensão (Rojas et al., 2006).

A espécie oficial da Farmacopéia Brasileira é a *Passiflora alata*. Mas, apesar de seu caráter oficial, há poucos estudos com esta espécie tanto sobre aspectos químicos, quanto biológicos, desta espécie vegetal (Provensi et al., 2006). A administração intraperitoneal de um extrato fluido dessa espécie (75 e 150 mg/kg) prolongou o tempo de sono induzido por pentobarbital, reduziu a atividade motora espontânea e apresentou discreto efeito anticonvulsivante em camundongos, demonstrando sua ação depressora do SNC (Oga et al., 1984). Foi verificada, também, uma ação do tipo ansiolítica de extratos aquosos e hidroetanólicos das folhas de *Passiflora alata* (100 e 150 mg/kg, i.p.) e *Passiflora edulis* (50, 100 e 150 mg/kg, i.p.), em ratos (Petry et al., 2001; De Paris et al., 2002).

A espécie *Passiflora edulis* variedade *flavicarpa* Degener, como citamos anteriormente, é a mais cultivada no Brasil, com destinação majoritária à produção de sucos (Córdova et al., 2005). Produz um suco amarelado, com acidez elevada, sabor e aroma agradáveis, rico em vitaminas e minerais (Manica et al., 1997). Essa espécie, popularmente chamada de maracujá azedo, é utilizada como sedativo, diurético, anti-helmíntico, anti-diarréico, estimulante, tônico e também no tratamento da hipertensão, sintomas da menopausa e cólicas infantis (Chopra et al., 1956; Kirtikar e Basu, 1975; Mowrey, 1993).

Extratos de *Passiflora edulis* também apresentaram propriedades antioxidantes. No estudo feito por Rudnicki e colaboradores (2007) foram testados extratos de suas folhas, *in vitro* e *ex vivo*, e o resultado encontrado indica que o

potencial antioxidante da espécie provavelmente está relacionado com os polifenóis encontrados na mesma. Inúmeros estudos realizados com compostos fenólicos, especialmente os flavonóides (antoxantinas e antocianinas), demonstram a capacidade de captar radicais livres que estes compostos possuem (atividade antioxidante) e seus efeitos na prevenção de enfermidades cardiovasculares e circulatórias, cancerígenas, no diabetes e no mal de Alzheimer (Kuskoski et al., 2006).

O extrato etanólico desta espécie foi avaliado quanto à toxicidade aguda e apresentou DL<sub>50</sub> (dose letal) de 456 mg/kg i.p., em camundongos (Oga et al., 1984). Benincá e colaboradores (2007) mostraram ainda que diferentes extratos das folhas de *Passiflora edulis* parecem agir de forma a inibir a migração leucocitária em processos inflamatórios provocados por diferentes agentes.

No entanto, poucos trabalhos encontram-se disponíveis na literatura a respeito das propriedades biológicas do suco preparado a partir da polpa dos frutos de *Passiflora edulis*. Em um destes trabalhos, o suco dos frutos apresentou uma efetiva redução no número e tamanho de formações neoplásicas induzidas em camundongos, além de torná-las menos invasivas (Rowe, 2004). Rojas e colaboradores (2006) testaram o efeito do suco dos frutos de *Passiflora edulis* em ratos com hipertensão induzida por L-NAME. Os resultados indicaram que o suco diminuiu significativamente a pressão arterial logo no primeiro dia de tratamento. No mesmo ano, Ichimura e colaboradores mostraram que o extrato feito a partir da casca de *Passiflora edulis* parece ter efeito anti-hipertensivo nos ratos da linhagem SHR (ratos espontaneamente hipertensos).

Assim, apesar da importância econômica se concentrar em torno da produção de sucos (Manica, 1981), a maior parte dos estudos de efeitos medicamentosos gira em torno de extratos obtidos a partir das folhas e partes aéreas de *Passiflora edulis*. Além disso, os poucos estudos existentes acerca do suco dessa espécie ou limitam-se a investigar sua importância nutricional (Suntornsuk et al., 2002) e componentes responsáveis por seu aroma (Tominaga et al., 2000; Jordán et al., 2002), ou são voltados para a investigação de seus efeitos em outros sistemas biológicos (Rowe, 2004; Rojas et al., 2006) que não o SNC, o qual se relaciona ao efeito sedativo, calmante e tranqüilizante referido pela medicina tradicional e popular.

## **2 – Objetivos**

### **2.1 – Gerais**

Investigar os potenciais efeitos neuropsicofarmacológicos do suco preparado a partir da polpa dos frutos da espécie *Passiflora edulis* variedade *flavicarpa* Degener em camundongos.

### **2.2 – Específicos**

O trabalho se propôs a avaliar os efeitos do tratamento oral agudo com *Passiflora edulis* sobre parâmetros relacionados a algumas atividades do sistema nervoso central (atividade tipo-ansiolítica, atividade hipno-sedativa, anticonvulsivante e do tipo-antidepressiva).

## **3 – Justificativa do Trabalho**

Apesar da existência de alguns estudos sobre os efeitos neurofarmacológicos do gênero *Passiflora* (Speroni e Minghetti, 1988; Maluf et al., 1991; Petry et al., 2001; Doyama et al., 2005; Coleta et al., 2006; Reginatto et al., 2006), a grande maioria desses trabalhos investigou os efeitos das folhas ou das partes aéreas das espécies, sendo poucos os que estão relacionados aos efeitos de outras partes dessas plantas (Dhawan et al., 2001b; Ichimura et al., 2006).

O estudo sobre a potencial atividade neurofarmacológica do suco dos frutos de *Passiflora edulis* variedade *flavicarpa* visa preencher uma lacuna existente na literatura científica, uma vez que os extratos investigados até o momento são extratos obtidos das folhas da espécie, enquanto que o uso medicinal tradicional que se faz da mesma usa, na grande maioria das vezes, o suco preparado a partir da polpa dos frutos. Portanto, embora a população continue a utilizar o suco como sedativo, tranqüilizante e ansiolítico, muito pouco está disponível na literatura científica a respeito de sua atividade neurofarmacológica. Desta forma, este trabalho

vem contribuir para a elucidação da real atividade do suco dos frutos desta espécie vegetal no sistema nervoso central.

## **4 – Material e Métodos**

### **4.1. – Material vegetal**

Os frutos maduros de *Passiflora edulis* foram coletados em região de cultivo no município de Antônio Carlos, no estado de Santa Catarina, Brasil, em junho de 2008. O material vegetal foi identificado pelo Dr. Daniel de Barcellos Falkenberg (Departamento de Botânica, UFSC) e o material testemunho foi depositado no herbário da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o código FLOR 33886.

### **4.2 – Preparo do suco**

Foram utilizados frutos maduros *in natura*. Para o preparo dos sucos triturou-se em liquidificador a polpa dos frutos com sementes, sem o acréscimo de água. Após o processo de trituração o suco obtido foi filtrado com o auxílio de um coador e liofilizado. O preparo foi realizado pela aluna de doutorado Silvana Zucolotto, do Laboratório de Química Farmacêutica do Departamento de Ciências Farmacêuticas desta Universidade, sob a orientação do professor Dr. Eloir Paulo Schenkel.

### **4.3 – Animais**

Foram utilizados camundongos Swiss machos, com idade entre 3 e 4 meses (35 a 50 g). Os animais foram alojados em grupos de no máximo 20 por caixa e mantidos em condições controladas de temperatura ( $22 \pm 2^\circ \text{C}$ ); ciclo claro/escuro 12/12 h, com luzes se acendendo às 07:00 h; acesso à água e ração *ad libitum*. Os experimentos foram executados de acordo com os padrões internacionais de bem-estar animal recomendados pela Sociedade Brasileira de Neurociência e Comportamento e os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética Sobre o Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (PP00274/CEUA/UFSC).

#### **4.4 - Condições Gerais**

O tratamento foi realizado por via oral, com o auxílio de cânulas de gavagem (0,1 ml/ 10 g) com o suco liofilizado. As doses utilizadas, determinadas previamente em experimentos de nosso grupo de pesquisa com a mesma espécie vegetal, foram de 50 mg/kg, 100 mg/kg e 300 mg/kg. Para seres humanos, 50 mg/kg equivaleria a meio copo de suco, e assim progressivamente para as outras doses, de acordo com cálculos alométricos(?).

Como controle positivo foi utilizado o diazepam nos testes de investigação da atividade tipo-ansiolítica, hipno-sedativa e anticonvulsivante. Já no teste para investigação da atividade tipo-antidepressiva foi utilizada a imipramina, antidepressivo padrão. O grupo controle negativo foi tratado com o veículo de solubilização (solução salina, NaCl 0,9%).

Os animais foram testados individualmente, 1 h após o tratamento por via oral, tempo necessário para ação terapêutica para a maioria das drogas quando se usa esta via de administração. Apesar disso, os resultados encontrados com esse tempo não foram significativos. Portanto, para melhor investigação, decidimos testar os animais 2 h após o tratamento.

Para os diferentes testes comportamentais, os animais foram divididos em cinco grupos experimentais: controle positivo (diazepam ou imipramina), controle (veículo), tratados com 50 mg/kg, 100 mg/kg e 300 mg/kg do suco dos frutos de *Passiflora edulis*.

Para cada teste foi utilizado um número de 7 a 8 animais por grupo de tratamento.

#### **4.5 - Testes Comportamentais**

##### **4.5.1 - Teste da Transição Claro-Escuro**

O aparato é constituído de uma caixa feita de acrílico, dimensões de 45 x 27 x 27 cm, dividida em dois compartimentos, um de cor branca (30x27x27 cm) e outro de cor preta (15x27x27 cm), estando a parte branca iluminada com 400 lux. O animal foi colocado no compartimento claro, com a cabeça voltada para a entrada



que dá acesso ao compartimento escuro. Os registros foram efetuados durante 5 min após a primeira entrada no lado escuro da caixa. Os parâmetros registrados foram: latência para a primeira entrada no lado escuro da caixa, tempo total de permanência no compartimento claro e número de transições entre eles. Drogas ansiolíticas podem aumentar o número de cruzamentos, assim como o tempo de permanência na parte clara da caixa, além da latência para passagem para o lado escuro (Costall et al., 1989). Foi utilizado diazepam como droga padrão ansiolítica na dose de 2 mg/kg, dose esta obtida em curvas dose-resposta realizadas pelo nosso grupo de estudo.

Imediatamente após o teste da transição claro-escuro, os animais foram submetidos ao teste do campo aberto, onde foram observados durante 5 min para o registro do número de áreas percorridas e do número de levantamentos, como forma de avaliar possíveis prejuízos motores causados pelos tratamentos e evitar resultados falso-positivos.

#### **4.5.2 - Sono induzido por éter etílico**

Os camundongos pré-tratados oralmente com a substância em estudo (suco liofilizado nas doses de 50, 100 e 300 mg/kg) foram colocados em uma câmara de vidro fechada (30 cm X 20 cm de diâmetro), saturada com éter etílico. A saturação se deu pelo umedecimento de um chumaço de algodão com 5 ml de éter etílico colocado na câmara 5 min. antes do teste. Transcorrido o tempo para a saturação da câmara, os animais foram introduzidos individualmente na mesma. Foi registrada a latência e a duração da hipnose induzida pelo éter etílico. O sono foi caracterizado pela perda do reflexo postural do animal; após 60 s da perda deste reflexo, o animal foi retirado da câmara e colocado em decúbito dorsal para o registro dos parâmetros de interesse. O término do sono foi caracterizado pela recuperação da postura normal (Vieira, 2001; Duarte et al., 2007). Foi utilizado diazepam como droga padrão hipno-sedativa na dose de 1 mg/kg, dose esta obtida em curvas dose-resposta realizadas em nosso grupo de estudo.

### **4.5.3 - Convulsões induzidas por pentilenotetrazol**

Os animais foram tratados por via intraperitoneal com pentilenotetrazol na dose de 80 mg/kg, 2 h após o tratamento com o suco, o veículo ou a droga-padrão respectiva (diazepam, 3 mg/kg, v.o.). A dose da droga-padrão foi escolhida através de curvas dose-resposta realizadas por nosso grupo de estudo. Imediatamente após o tratamento com pentilenotetrazol, os animais foram colocados em uma caixa de observação, onde os seguintes parâmetros foram registrados durante o tempo total de 40 min.: tempo de latência para a ocorrência da primeira convulsão clônica, duração desta convulsão e severidade das convulsões, avaliada por meio de escores (1= abalos musculares; 2= convulsão clônica sem perda do reflexo postural; 3= convulsão clônica com perda do reflexo postural; 4= convulsão tônica sem morte, e 5= convulsão tônica seguida de morte (Czuczwar e Frey, 1986).

### **4.5.4 - Teste da Suspensão pela Cauda**

O procedimento consiste em suspender os animais pela cauda, por um período de 5 min sendo registrados: a latência para o primeiro episódio de imobilidade e o tempo total de imobilidade, em segundos. Os antidepressivos utilizados na clínica diminuem o tempo de imobilidade dos animais neste teste (Cryan et al., 2002).

Os camundongos pré-tratados via oral com a substância em estudo (suco liofilizado nas doses de 50, 100 e 300 mg/kg) foram suspensos por suas caudas 1h e 2h após o tratamento, e observados um a um durante 5 min. Foram medidos: a latência para a primeira imobilidade e o tempo total de imobilidade. Como controle foi utilizada a droga-padrão antidepressiva imipramina na dose de 45 mg/kg, dose esta encontrada em curvas dose-resposta realizadas pelo nosso grupo de estudo.

## **4.6 – Análise Estatística**

Os dados foram expressos como a média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m.) ou como mediana  $\pm$  intervalo interquartil, quando adequado. As comparações estatísticas dos resultados foram realizadas por análise de variância (ANOVA) de 1 via (dados paramétricos), teste de Kruskal-Wallis ou Chi-quadrado para dados não-paramétricos. Posteriormente, os grupos foram comparados entre si, usando-se o

teste *post-hoc* de Dunnett ou Dunn. Já para os controles, foi utilizado o teste t de Student. A probabilidade aceita como indicativo da existência de diferença estatisticamente significativa foi de  $p \leq 0,05$ . Todas as comparações estatísticas foram efetuadas utilizando-se o pacote estatístico *Statistic 6.0®*.

## **5 – Resultados**

### **5.1 – Uma hora após o tratamento oral**

#### **5.1.1 – Teste da Transição Claro-Escuro**

A Figura 1 mostra que uma hora após o tratamento oral, o suco de *Passiflora edulis* não observamos qualquer efeito do tipo ansiolítico em nenhuma das doses e em nenhum dos parâmetros analisados: (A) latência para a entrada no compartimento claro, (B) transições entre os compartimentos e (C) tempo de permanência no compartimento claro. Também podemos observar que não houve diferença significativa entre os animais tratados 30 min antes com a droga padrão e os animais do grupo controle.

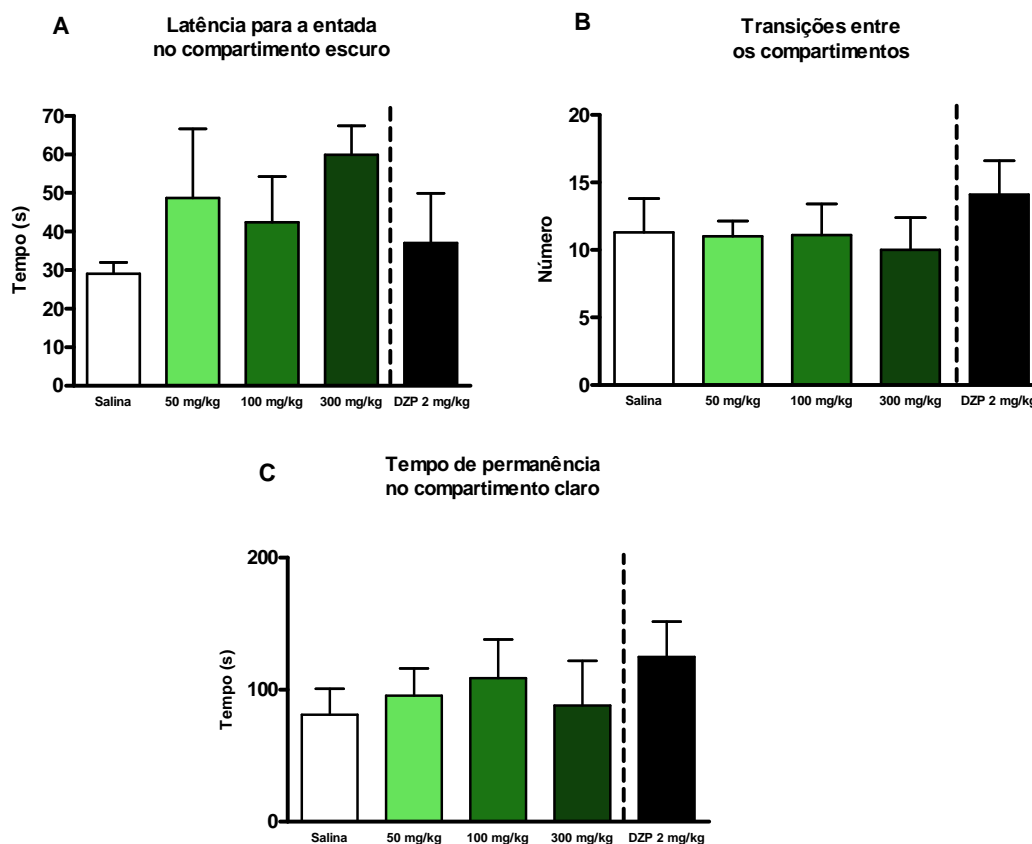


Figura 1 – Efeitos do suco dos frutos de *Passiflora edulis flavicarpa* no comportamento de camundongos avaliados no teste da transição claro-escuro, registrado durante 5 min, 1 h após o tratamento oral. O diazepam (DZP) 2,0 mg/kg v.o. foi utilizado como droga padrão ansiolítica. Estão representados: latência para entrar no compartimento escuro (A), transições entre os compartimentos (B) e tempo no compartimento claro (C). Os resultados estão representados como média  $\pm$  e.p.m. de 7-8 animais. Os dados foram analisados por ANOVA de 1 via ou teste *t* de Student (DZP x controle).

### 5.1.2 – Teste do Campo Aberto

Como vemos na Figura 2, o tratamento oral (1 h) com o suco de *Passiflora edulis* não foi capaz de alterar significativamente o número de levantamentos (A) nem o número de cruzamentos (B) exibidos pelos animais durante o teste. A Figura também nos mostra que o grupo tratado com a droga padrão (diazepam, 2 mg/kg) exibiu menor número de levantamentos em comparação com o grupo controle ( $p = 0,00$ ).

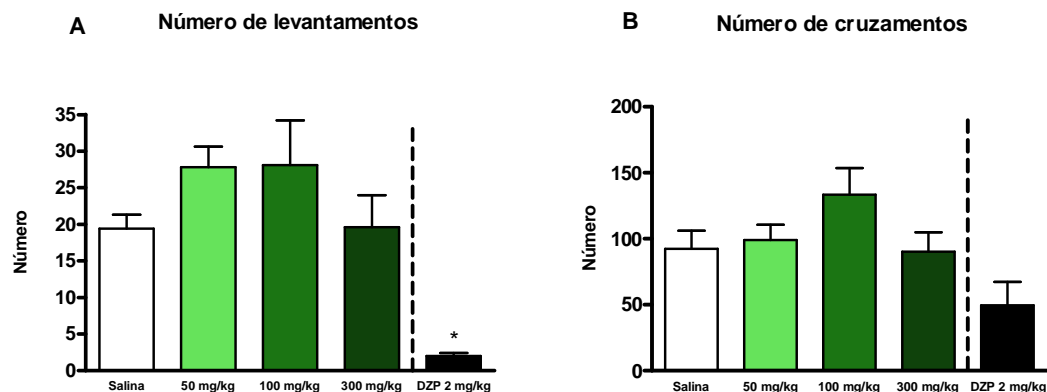


Figura 2 – Efeitos do suco dos frutos de *Passiflora edulis flavicarpa* no comportamento de camundongos avaliados no teste do campo aberto, registrado durante 5 min, após terem passado pelo teste da transição claro-escuro, 1 h após terem recebido o tratamento oral. O diazepam (DZP) 2,0 mg/kg v.o. foi utilizado como droga padrão ansiolítica. Estão representados: levantamentos (A) e cruzamentos (B). Os resultados estão representados como média  $\pm$  e.p.m. de 7-8 animais. Os dados foram analisados por ANOVA de 1 via seguida de teste de Dunnett. \* $p \leq 0,05$  comparado ao grupo controle.

### 5.1.3 – Teste da Suspensão pela Cauda

A Figura 3 mostra que neste ensaio não houve nenhuma diferença significativa entre os grupos analisados.

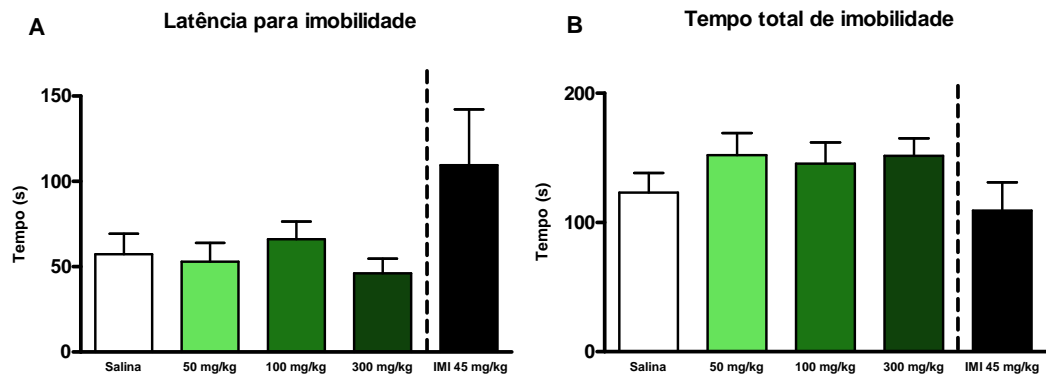


Figura 3 – Efeitos do suco dos frutos de *Passiflora edulis flavicarpa* no comportamento de camundongos avaliados no teste da suspensão pela cauda, 1 h após o tratamento oral. A imipramina (IMI) 45 mg/kg v.o. foi utilizada como droga padrão antidepressiva. Estão representados: latência para a imobilidade (A) e tempo total de imobilidade (B). Os resultados estão representados como média  $\pm$  e.p.m. para 7-8 animais. Os dados foram analisados por ANOVA de 1 via seguida de teste de Dunnett.

## 5.2 – Duas horas após o tratamento oral

### 5.2.1 – Teste da Transição Claro-Escuro

A Figura 4 mostra que o tratamento oral com o suco dos frutos de *Passiflora edulis* aumentou significativamente os parâmetros analisados: (A) latência para a primeira entrada no compartimento escuro [ $F_{3,25} = 3,65$ ,  $p < 0,05$ ]; (C) tempo total no compartimento claro [ $F_{3,25} = 3,91$ ,  $p < 0,05$ ]. O teste *post-hoc* revelou ser a dose de 50 mg/kg a responsável por essa alteração ( $p = 0,039$ ). Nenhuma dose do extrato foi capaz de alterar o parâmetro (B) número de transições entre os compartimentos. Além disso, uma tendência ao aumento nos parâmetros latência para a primeira entrada e tempo total de permanência no compartimento claro parece ocorrer na dose de 300 mg/kg.

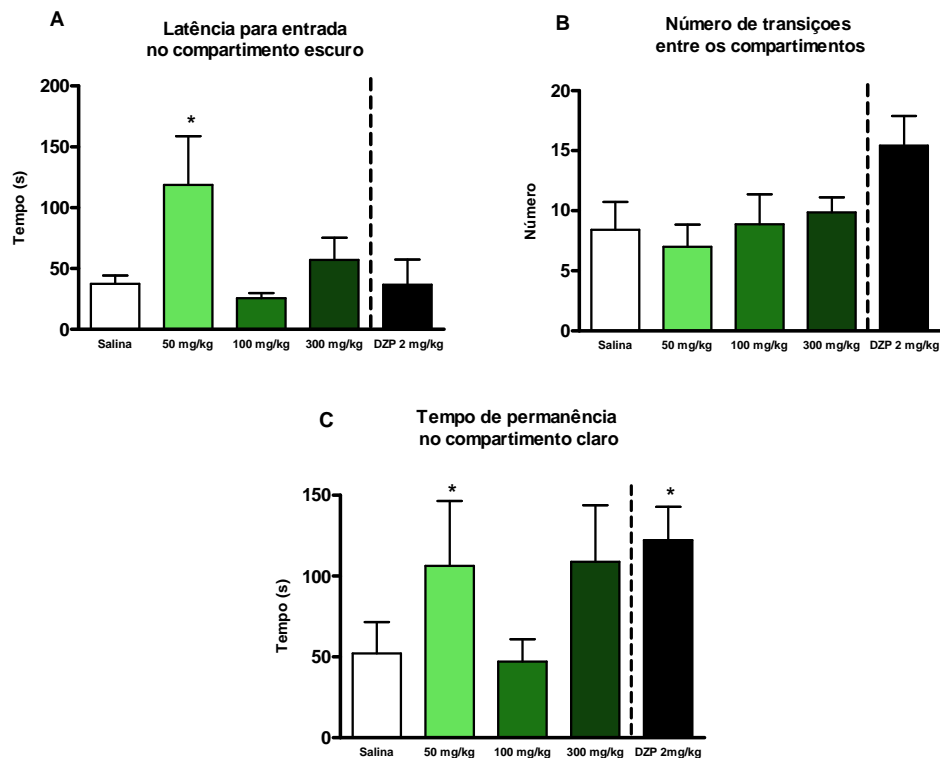


Figura 4 – Efeitos do suco dos frutos de *Passiflora edulis flavicarpa* sobre o comportamento de camundongos avaliados no teste da transição claro-escuro, registrado durante 5 min, 2 h após o tratamento oral. O diazepam (DZP) 2,0 mg/kg v.o. foi utilizado como droga padrão ansiolítica. Estão representados: latência para entrar no compartimento escuro (A), transições entre os compartimentos (B) e tempo no compartimento claro (C). Os resultados estão representados como média  $\pm$  e.p.m. de

7-8 animais. Os dados foram analisados por ANOVA de 1 via ou teste *t* de Student (DZP x controle). \* $p \leq 0,05$  comparado ao grupo controle.

### 5.2.2 - Teste do Campo Aberto

Como podemos ver na Figura 5, apesar de não haver diferenças estatisticamente significantes, o tratamento oral com o suco de *Passiflora edulis* parece ser capaz de aumentar os parâmetros: (A) levantamentos e (B) cruzamentos ( $p=0,085$ ;  $p=0,113$ ; respectivamente), quando a comparação foi feita entre os grupos controle e suco em todas as doses.

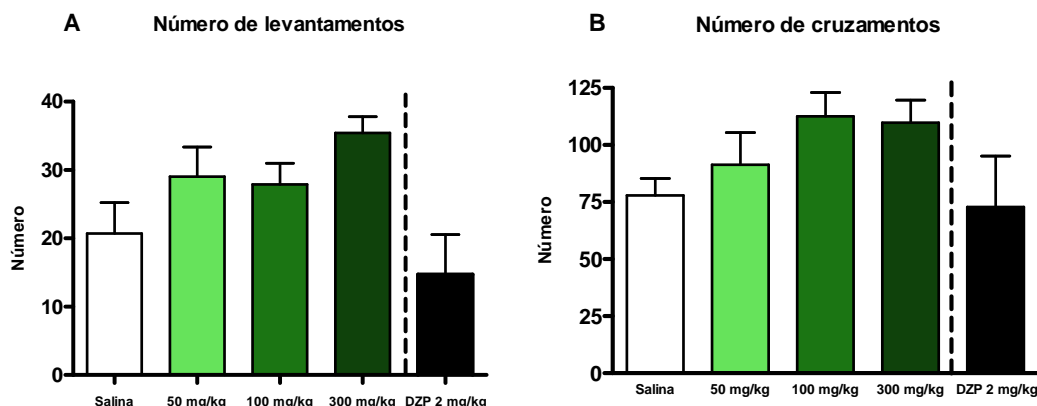


Figura 5 – Efeitos do suco dos frutos de *Passiflora edulis flavicarpa* no comportamento de camundongos avaliados no teste do campo aberto, registrado durante 5 min, após terem passado pelo teste da transição claro-escuro. O diazepam (DZP) 2,0 mg/kg v.o. foi utilizado como droga padrão ansiolítica. Estão representados: levantamentos (A) e cruzamentos (B). Os resultados estão representados como média  $\pm$  e.p.m. de 7-8 animais. Os dados foram analisados por ANOVA de 1 via seguida de teste de Dunnett. \* $p \leq 0,05$  comparado ao grupo controle.

### 5.2.3 – Teste do Sono induzido por Éter Etílico

A Figura 6 mostra que o tratamento oral com o suco de *Passiflora edulis* na dose de 300 mg/kg foi capaz de aumentar a latência para o sono (A) [ $F_{3,28} = 2,93$ ;  $p = 0,050$ ]. Em outras palavras, os animais que receberam o suco nesta dose demoraram mais tempo para perder o reflexo postural em comparação ao grupo

controle ( $p = 0,019$ ). Já a análise feita pelo teste t de Student para comparar o grupo controle e controle positivo não demonstrou diferença significativa entre os mesmos. Para o parâmetro duração do sono (B), a análise estatística mostrou diferença significativa entre os grupos controle ( $p = 0,010$ ) sendo que os animais tratados com diazepam apresentaram maior duração de sono. Porém, nenhuma diferença significativa quando comparamos os grupos tratados com os extratos.

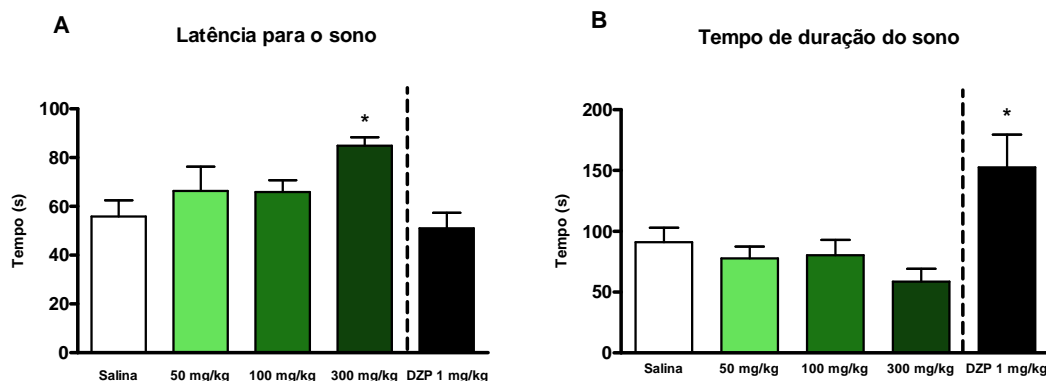


Figura 6 – Efeitos do suco dos frutos de *Passiflora edulis flavicarpa* no comportamento de camundongos avaliados no teste do sono induzido por éter etílico, registrado 2 h após terem recebido o tratamento via oral. O diazepam (DZP) 1,0 mg/kg v.o. foi utilizado como droga padrão hipnosedativa. Estão representados: latência para o sono (A) e tempo de duração do sono (B). Os resultados estão representados como média  $\pm$  e.p.m. de 7-8 animais. Os dados foram analisados por ANOVA de 1 via seguida de teste de Dunnett. \* $p \leq 0,05$  comparado ao grupo controle.

#### 5.2.4 – Teste das Convulsões induzidas por pentilenotetrazol

Como podemos observar, as Figuras 7 e 8 mostram que após 2h do tratamento oral com o suco de *Passiflora edulis* os animais não apresentam diferença significativa em nenhum dos parâmetros analisados nesse teste. A droga padrão (DZP 3 mg/kg, v.o.) utilizada foi capaz de inibir abalos clônicos, bem como impedir a morte causada pelas convulsões, validando o modelo.



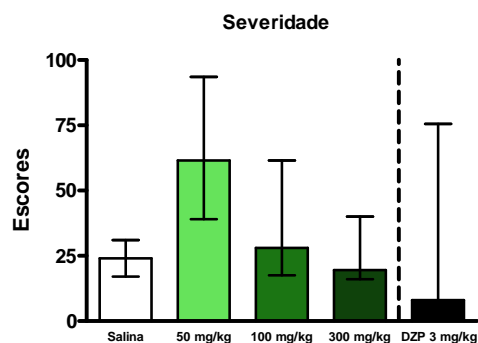


Figura 7 – Efeitos do suco dos frutos de *Passiflora edulis flavicarpa* no comportamento de camundongos avaliados no teste das convulsões induzidas por pentilenotetrazol, registrado 2 h após terem recebido o tratamento. O diazepam (DZP) 3 mg/kg v.o. foi utilizado como droga padrão anticonvulsivante. Está representada a severidade das convulsões. Os resultados estão representados como mediana e intervalo interquartil de 7-8 animais. Os dados foram analisados pelo teste não-paramétrico U de Mann-Whitney (DZP x controle) e de Kruskal-Wallis para as doses do suco.

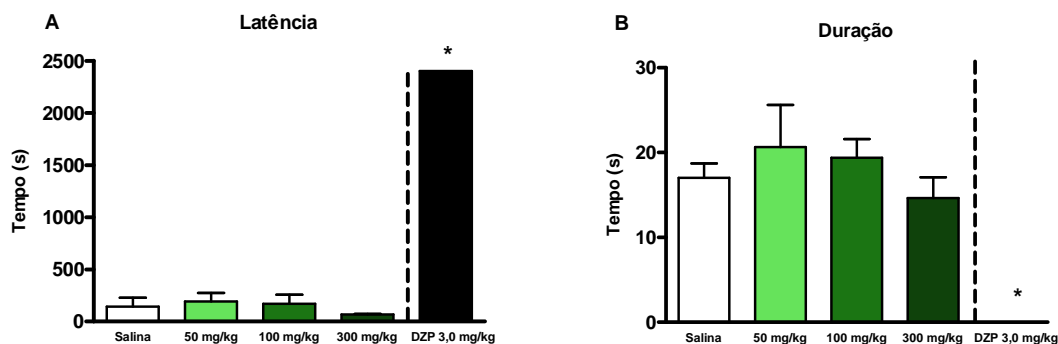


Figura 8 – Efeitos do suco dos frutos de *Passiflora edulis flavicarpa* no comportamento de camundongos avaliados no teste das convulsões induzidas por pentilenotetrazol, registrado 2 h após terem recebido o tratamento. O diazepam (DZP) 3 mg/kg v.o. foi utilizado como droga padrão anticonvulsivante. Estão representados: latência para o primeiro abalo clônico (A) e duração do primeiro abalo clônico (B). Os resultados estão representados como média  $\pm$  e.p.m. de 7-8 animais. Os dados foram analisados por ANOVA de 1 via seguida de teste de Dunnett,

A Tabela 1 apresenta a letalidade dos animais. O teste do Chi quadrado não revelou diferença significativa na comparação entre o controle e os grupos tratados com as diferentes doses do suco de *Passiflora edulis*: 50mg/kg e 100mg/kg –  $X^2= 2,02$ ;  $p= 0,1553$ ; 300 mg/kg –  $X^2= 0,94$ ;  $p= 0,332$ . O valor obtido no teste de Chi quadrado, seguido de Fisher, DZP X Salina foi  $X^2= 15$  ( $p<0,05$ ).

Tabela 1 – Letalidade registrada 2 h após terem recebido o tratamento oral com o suco de *Passiflora edulis* em animais avaliados no teste das convulsões induzidas por pentilenotetrazol,. O diazepam (DZP) 3 mg/kg v.o. foi utilizado como droga padrão anticonvulsivante.

<b>Letalidade</b>	
<b>Salina</b>	100%
<b>50 mg/kg</b>	75%
<b>100 mg/kg</b>	75%
<b>300 mg/kg</b>	87,5%
<b>Diazepam 3,0 mg/kg</b>	0

#### **5.2.5 – Teste da Suspensão pela cauda**

É possível observar na Figura 9 que o teste foi validado porque houve aumento significativo no parâmetro latência para a imobilidade (A), quando comparamos o grupo que recebeu a droga padrão (imipramina, 45 mg/kg) e o grupo controle ( $p= 0,021$ ). Apesar de não ser significativo, o tratamento com a droga padrão tende a alterar o parâmetro tempo total de imobilidade (B), com  $p = 0,054$ . Além disso, a mesma figura nos mostra que o tratamento com o suco de *Passiflora edulis* não foi capaz de alterar nenhum dos parâmetros analisados no referido modelo em nenhuma das doses.

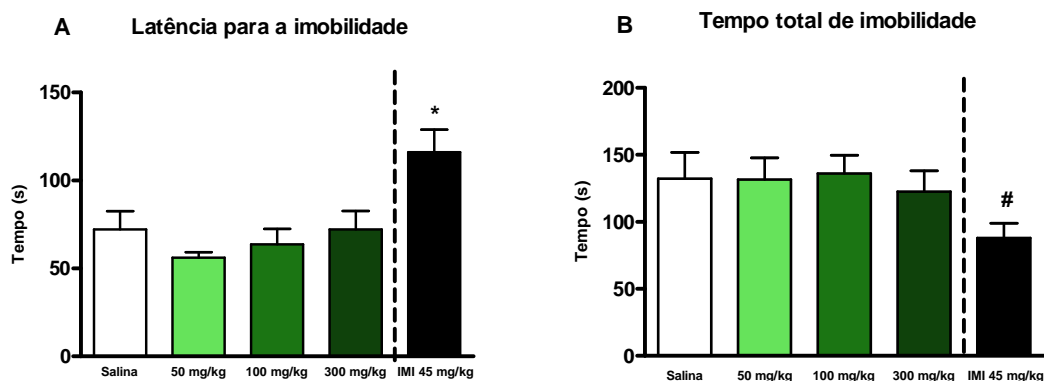


Figura 9 – Efeitos do suco dos frutos de *Passiflora edulis flavicarpa* no comportamento de camundongos avaliados no teste da suspensão pela cauda, registrado 2 h após terem recebido o tratamento oral. A imipramina (IMI) 45mg/kg v.o. foi utilizado como droga padrão antidepressiva. Estão representados: latência para a imobilidade (A) e tempo total de imobilidade (B). Os resultados estão representados como média  $\pm$  e.p.m. de 7-8 animais. Os dados foram analisados por ANOVA de 1 via seguida de teste de Dunnett e teste t de Student para comparação dos grupos controle. \* $p \leq 0,05$  comparado ao grupo controle. #  $p = 0,054$  comparado ao grupo controle.

## 6 – Discussão

Diversas espécies de *Passiflora* são utilizadas tradicionalmente, em algumas partes do mundo, como sedativos e/ou ansiolíticos. Entre elas estão: *Passiflora caerulea* (Hickey e King, 1988; Kirtikar e Basu, 1975; Rendle, 1959; Dhawan, 2004), *Passiflora foetida* (Nwosu, 1999), *Passiflora incarnata* (Rojas et al., 2006), *Passiflora edulis* (Chopra et al., 1956; Kirtikar e Basu, 1975; Mowrey, 1993). Apesar de serem muitas as espécies com uso tradicional, a maioria dos estudos verificando a possível atividade ansiolítica de indivíduos desse gênero são com *Passiflora alata* (como observamos no estudo de Oga et al., 1984; Doyama et al., 2005; Provensi et al., 2006) e *Passiflora incarnata* (Dhawan et al., 2001, 2002, 2003).

Apesar de serem menos frequentes, os estudos feitos com a espécie *Passiflora edulis* e sua possível ação no sistema nervoso central, estes limitam-se a estudar diferentes extratos a partir das folhas da espécie. Em 1983, Valle e Leite

demonstraram que o extrato aquoso das folhas dessa espécie foi capaz de aumentar o tempo do sono induzido por pentobarbital em camundongos, indicando uma possível atividade hipno-sedativa do extrato. O extrato aquoso das folhas da espécie promoveu também um efeito do tipo-ansiolítico em ratos testados no labirinto em cruz elevado, estudo este realizado por Reginatto e colaboradores no ano de 2006. Os estudos realizados com o suco da espécie em questão investigaram, no entanto, sua ação sobre outros aspectos: nutricional (Suntornsuk et al., 2002), caráter aromático (Tominaga et al., 2000; Jordán et al., 2002), atividade anti-hipertensiva (Rojas et al., 2006) e anti-neoplásica (Rowe, 2004). Há o registro de apenas um estudo relacionando o suco dos frutos dessa espécie com sua possível atividade central: Lutomski (1975) concluiu que o suco possui atividade ansiolítica em ratas, após avalia-las em testes de retirada de cocaína e no teste do Rota-rod. Desde então, nenhum outro estudo foi publicado, confirmando ou não esta observação.

No presente estudo, foi investigado o possível efeito do tipo ansiolítico do suco dos frutos de *Passiflora edulis*, utilizando o modelo da transição claro-escuro e, como controle positivo, foi utilizado um benzodiazepínico amplamente utilizado na clínica, diazepam.

Este paradigma experimental da transição claro-escuro foi inicialmente proposto por Crawley e Goodwin, em 1980, sendo desenvolvido com base na aversão inata de roedores por áreas altamente iluminadas, além do fato deles possuírem um comportamento espontâneo de exploração de ambientes novos (Hascöet et al., 2001). O conflito resultante da tendência de explorar novos ambientes com a aversão inata dos animais por ambientes iluminados pode desencadear comportamentos comparados à ansiedade (Cruz et al., 1997).

No teste da transição claro-escuro, houve uma diferença significativa entre os animais tratados com diazepam e os animais do grupo controle 2 h após o tratamento. Este resultado serviu para validar o experimento, mostrando que o diazepam foi capaz de aumentar o tempo que os animais permaneceram no compartimento claro. Entre as doses do suco de *Passiflora edulis* testadas, a de 50 mg/kg mostrou uma atividade do tipo-ansiolítica caracterizada pelo aumento do tempo de permanência dos animais no compartimento claro do modelo, uma clara

evidência de que o ambiente se tornou menos aversivo. Já as doses maiores (100 mg/kg e 300 mg/kg) do suco de *Passiflora edulis* não foram capazes de modificar o comportamento dos animais nos parâmetros observados (latência para entrada no compartimento escuro, número de transições entre compartimentos e tempo total de permanência no compartimento claro do modelo). Além disso, o suco também foi capaz de alterar a latência para a entrada no compartimento escuro e o diazepam, droga padrão ansiolítica, não altera este parâmetro, isso nos faz sugerir que o suco não atua nos mesmos sistemas que o diazepam. Os resultados obtidos sugerem uma curva dose-resposta em U, em que pequenas doses apresentam efeito, doses intermediárias não apresentam, e o efeito reaparece em doses mais altas. Isso pode explicar o porquê de termos observado uma tendência tanto em permanecer mais tempo no compartimento claro, quanto na latência para entrada no compartimento escuro dos animais tratados com a dose de 300 mg/kg, o que não acontece na dose de 100mg/kg. Uma hora após o tratamento oral, entretanto, esses efeitos não apareceram, reforçando que o tempo de intervalo de 2 h é o mais indicado para estudos com o suco de *Passiflora edulis*. Para tornar nossa investigação mais robusta neste quesito, em futuros trabalhos iremos testar as mesmas doses do suco de *Passiflora edulis* no modelo do labirinto em cruz elevado, também utilizado para investigar atividade do tipo ansiolítica. Outro trabalho futuro será o de analisar doses mais baixas do suco, uma vez que nosso melhor resultado apareceu na dose de 50 mg/kg, a mais baixa das doses testadas.

Já no teste do campo aberto, 2 h após o tratamento, a análise estatística indicou que o suco não foi capaz de aumentar o número de levantamentos, bem como o número de cruzamentos observados no teste. O que demonstra que os animais analisados neste teste e no teste da transição claro-escuro não estavam sedados. Além disso, é possível perceber um discreto aumento no número de levantamentos, embora não significativo, nos animais tratados com a dose de 300 mg/kg. Este resultado sugere uma leve estimulação, que por vezes ocorre com tratamento ansiolítico padrão, por inibição do sistema inibitório GABAérgico, inibindo assim inibições de áreas cerebrais filogeneticamente mais recentes, como o córtex cerebral, levando a uma desinibição que se traduz numa excitação passageira. No entanto, para o intervalo de tratamento de 1 h os animais que receberam a droga

padrão apresentaram menor número de levantamentos, o que pode nos levar à conclusão de que neste teste o diazepam foi capaz de alterar a atividade locomotora dos animais e, portanto, provavelmente estes estavam sedados. Este resultado pode explicar o porquê da falta de significância existente no teste da transição claro-escuro pelo qual os animais passaram, antes do teste do campo aberto. É importante ressaltar que os erros-padrão das medidas apresentaram-se elevados mostrando uma variância grande dos dados, o que pode ter interferido negativamente na análise estatística, sugerindo a necessidade de aumentar o número de animais em experimentos adicionais para ambos os tempos de tratamento.

Para avaliar um possível efeito hipno-sedativo, foi utilizado o teste do sono induzido por éter etílico. Drogas depressoras centrais geralmente reduzem a latência e/ou aumentam a duração do sono induzido. O pentobarbital sódico é a droga mais empregada para esta atividade. Entretanto, drogas metabolizadas no fígado podem alterar os resultados por uma possível interação farmacocinética, gerando resultados falso-positivos. Portanto, é preferível o uso de um indutor de sono que não seja metabolizado pelo fígado, como o éter etílico (De Lima, 2006). O teste do sono utilizando éter etílico foi primeiramente proposto por Vieira no ano de 2001. Neste teste houve uma diferença significativa quando comparamos os tratamentos com o grupo controle no parâmetro latência para o sono, mais especificamente, foi o grupo tratado com 300 mg/kg do suco de *Passiflora edulis* o responsável por esse resultado. Os animais tratados com essa dose do suco apresentaram maior latência para o início do sono, ou seja, eles demoraram mais tempo para perder o reflexo postural enquanto estavam na cuba saturada de éter etílico. Já para o parâmetro tempo de duração do sono, a análise estatística não mostrou diferença significativa entre os grupos tratados com o suco e o grupo controle. Apesar disso, a dose de 300 mg/kg parece diminuir a duração do sono, resultado que vai ao encontro do efeito encontrado no parâmetro latência para o sono, sugerindo uma atividade estimulante, provavelmente pela inibição de sistemas inibitórios do sistema nervoso central, como anteriormente comentado. Outra possibilidade seria a de que na dose maior, compostos minoritários encontram-se em quantidade farmacologicamente ativa, tendo outros mecanismos de ação, diferente do mecanismo benzodiazepínico.

No teste das convulsões induzidas por pentilenotetrazol, drogas que aumentam a latência para a primeira convulsão ou impedem essas convulsões e/ou diminuem a duração ou a letalidade das mesmas correlacionam-se positivamente com as drogas usadas no tratamento das epilepsias do tipo crise de ausência em humanos (Swinyard et al., 1952 *apud* De Lima, 2006). Neste teste não encontramos diferença estatística em nenhum dos parâmetros analisados quando comparamos os grupos tratados com o suco de *Passiflora edulis* e o grupo controle. Apesar disso, no parâmetro letalidade, podemos perceber que o suco nas doses de 50 mg/kg e 100 mg/kg foi capaz de impedir a morte em 25% dos animais, indicativo de um possível efeito protetor das convulsões.

Mareck e colaboradores (1990) relataram a presença de flavonóides C-glicosilados no suco obtido através de frutos frescos e no suco industrializado de *Passiflora edulis*. Segundo estes autores, dentre esses flavonóides houve a prevalência da isoorientina em ambos os tipos de suco. A este respeito, outros estudos de nosso laboratório sugerem que os flavonóides C-glicosilados estejam relacionados às atividades neurofarmacológicas encontradas nos estudos feitos com extratos de *Passiflora edulis* (Sena et al., 2009). Apesar disso, não se sabe ainda quais sistemas de neurotransmissores são a base na qual estes flavonóides atuam no sistema nervoso central.

O teste da suspensão pela cauda é um dos testes animais mais utilizados para a avaliação e identificação de novos compostos com ação central do tipo antidepressiva (Bourin et al., 2005; Cryan et al., 2005). Este teste foi proposto por Stéru e colaboradores (1985) como uma alternativa ao teste do nado forçado para o estudo de compostos com possível atividade do tipo antidepressiva. A avaliação do possível efeito do tipo antidepressivo neste modelo nos mostra que o tratamento com o suco de *Passiflora edulis* não foi capaz de alterar nenhum dos parâmetros analisados, tanto em 1 h quanto em 2h de tempo de intervalo entre tratamento e observação. Em experimentos já realizados em nosso grupo de pesquisa, outros extratos da espécie *Passiflora edulis* pareceram ter atividade do tipo antidepressiva (Sena, L.M., comunicação pessoal), entretanto, a proporção dos componentes dos diferentes extratos - apesar de serem obtidos da mesma espécie vegetal - parece

ser substancialmente diferente em quantidade, mas não em qualidade. Apesar disso, nenhum estudo quantitativo foi realizado até o momento.

## 7- Conclusões

Com os resultados obtidos no presente estudo podemos concluir que o suco de *Passiflora edulis* possui potencial ansiolítico, uma vez que conseguiu aumentar o tempo de permanência no compartimento claro do teste da transição claro-escuro, porém mais estudos devem ser feitos para confirmar estes resultados. Também podemos concluir que o suco, por apresentar um perfil diferente da droga ansiolítica padrão (diazepam) no teste da transição claro-escuro, provavelmente possui um mecanismo de ação da mesma.

O fato do suco de *Passiflora edulis* ter aumentado o tempo de latência para o sono no teste do sono induzido por éter e, ao mesmo tempo, apresentado um discreto efeito em aumentar o número de levantamentos no teste do campo aberto, o que nos faz sugerir que o mesmo possui efeito estimulante em doses elevadas. Apesar disso, não podemos dizer se este efeito é motor ou psicofarmacológico. Também para esclarecer essa dúvida outros experimentos devem ser realizados em breve com este objetivo.

Com relação aos resultados obtidos no teste das convulsões induzidas por pentilenotetrazol, podemos concluir que apesar do suco da espécie em questão não parecer ter efeito anticonvulsivante, ele talvez possa ter uma propriedade protetora parcial, uma vez que aumenta a latência para a morte e reduz em 25% a letalidade. Ou seja, sozinho não é suficientemente anticonvulsivante, mas talvez possa ser associado a outros fármacos, possibilitando a diminuição das doses destes, que por muitas vezes apresentam efeitos indesejáveis. Para uma melhor avaliação desta propriedade, pretendemos realizar o teste das convulsões induzidas por eletrochoque, outro paradigma experimental clássico usado para avaliação desta atividade.

Podemos concluir também que o suco dos frutos de *Passiflora edulis* não possui potencial antidepressivo, uma vez que não foi capaz de alterar os parâmetros



analisados no teste da suspensão pela cauda. Entretanto, não podemos descartar a possibilidade de que ele aja em outros circuitos neurais diferentes dos que estão envolvidos no teste da suspensão pela cauda. Sendo assim, um teste adicional para verificar um possível efeito antidepressivo do suco de *Passiflora edulis* será o do nado forçado.

É importante dizer que o trabalho realizado abre a perspectiva para a busca de informações mais aprofundadas acerca dos efeitos do suco de *Passiflora edulis* no sistema nervoso central. Além disso, auxilia na validação do uso popular feito do suco de maracujá como calmante. Por fim, podemos dizer que levantamentos etnofarmacológicos podem ser ferramentas promissoras na descoberta de novas drogas, uma vez que o Brasil possui uma vasta biodiversidade e endemismo, tornando nosso território ainda mais valioso.

## 8- Referências Bibliográficas

- ALBUQUERQUE, U.P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 16(Supl.): p.678-689, 2006.
- BENINCÁ, JP.: Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *Passiflora edulis*. **Food Chemistry**, 104, p. 1097–1105, 2007.
- BOURIN, M. et al. A proposal of decision tree to screen putative antidepressants using forced swim and tail suspension tests. **Behavioural Brain Research**, 164, p.266-269, 2005.
- CALAPAI, G.; CAPUTI A.P. Herbal medicines: can we do without pharmacologist? **Evid Based Complement Alternat Med.** 4 p. 41-3, 2007.
- CAMARGO, M. T. L. A.: Etnofarmacobotânica: conceituação e metodologia de pesquisa, Humanitas/FFLCH/USP: Terceira margem, São Paulo, 2003.
- CAVICHIOLO, J.C. et al. Florescimento e frutificação do maracujazeiro-amarelo submetido à iluminação artificial, irrigação e sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 28, n<sup>o</sup>.1, p.92-96, 2006.
- CHOPRA, R.N., NAYAR, S.L., CHOPRA, I.C. Glossary of Indian Medicinal Plants. **CSIR**, New Delhi, India, p.186-87,1956.
- COLETA, M. et al. Neuropharmacological Evaluation of the putative anxiolytic effects of *Passiflora edulis* Sims, its sub-fractions and flavonoid constituents. **Phytotherapy Research**, 20, p.1067-1073, 2006.
- CÓRDOVA, K.R.V. et al. Características físico-químicas da casca do Maracujá-amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa* Degener) obtida por secagem. **B.CEPPA**, 23, n<sup>o</sup>2, 2005.
- COSTA, A.M. ; TUPINAMBÁ, D.D. O maracujá e suas propriedades medicinais – estado da arte. In: FALEIRO, F.G. et al.: **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados. Cap. 20, p.475-506,2005.
- COSTALL, B. et al. Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 32(3), p.777-785, 1989.
- CRYAN, J.F.; MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends in Pharmacological Sciences**, 23 n<sup>o</sup>5, 2002.

- \_\_\_\_\_, The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 29, p. 571–625, 2005.
- CRAWLEY J.N. ; GOODWIN F.K. Preliminary report of a simple animal behaviour for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. 13, p.167-170, 1980.
- CZUCZWAR S.J.; FREY H.-H. Effect of morphine and morphine-like analgesics on susceptibility to seizures in mice. **Neuropharmacology**, 25, p.465–469, 1986.
- DE LIMA, T.C.M. Caracterização Farmacológica da Atividade Farmacológica No Sistema Nervoso Central In: LAPA et al. **Métodos de Avaliação da Atividade Farmacológica de Plantas Medicinais** – re-impressão, Setor Produtos Naturais, Departamento de Farmacologia, UNIFESP/EPM, São Paulo, p. 95-120, 2006.
- DE PARIS, F. et al. Pharmacochemical study of aqueous extracts of *Passiflora alata* Dryander and *Passiflora edulis* Sims. **Acta Farmacéutica Bonarense**, 21(1), p. 5-8, 2002.
- DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA A. Anxiolytic activity of aerial and underground parts of *Passiflora incarnata*. **Fitoterapia**, 72, p.922-926, 2001b.
- \_\_\_\_\_ et al., *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, 94, no.1, p.1-23, 2004.
- DI STASI, LC.: Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar/ Luiz Cláudio Di Stasi organizador. **Editores da Universidade Estadual Paulista**, São Paulo, 1996.
- DOS SANTOS, C.M. et al. Efeitos da temperatura e do substrato na germinação da semente do Maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) **Revista Brasileira de Sementes**, 21, nº1, p.1-6 ,1999.
- DOYAMA, J.T. et al. Chemical investigation and effects of the tea of *Passiflora alata* on biochemical parameters in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 96(3), p.371-374, 2005.
- DUARTE, F.S. et al. Participation of dihydrostyryl-2-pyrone and styryl-2-pyrone in the central effects of *Polygala sabulosa* (Polygalaceae), a folk medicine topical anesthetic. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 86, p.150–161, 2007.
- FERRO, D.: **Fitoterapia**: Conceitos clínicos, Editora Atheneu, São Paulo, 2006.
- GREMILLION K.J. The development of a mutualistic relationship between humans and maypops (*Passiflora incarnata* L.) in the southeastern United States **Journal of Ethnobiology** 9, p.135-155,1989.

- JORDÁN, M.J.; GOODNER, K.L.; SHAW, P.E. Characterization of the aromatic profile in aqueous essence and fruit juice of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degner) by GC-MS and GC/O. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50(6), p.1523-1528, 2002.
- KUSKOSKI, E.M. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, Polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, 36 n°4, 2006.
- KIRTIKAR, K.R. ; BASU, B.D. Indian Medicinal Plants. **Periodical Experts**, Dehradun, India, p. 1103, 1975.
- HEASCOET,M; BOURIN, M ; DHONNCHADEA, B.A.N. The mouse light-dark paradigm: a review. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, 25, p. 141-166, 2001.
- HICKEY, M. ; KING, C. **100 Families of Flowering Plants**. Cambridge University Press, Cambridge, p.130–133, 1988.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estudo nacional da despesa familiar**: tabela de composição de alimentos. 5. ed. Rio de Janeiro,1999. 137 p.
- ICHIMURA, T. et al. Antihypertensive effect of an extract of *Passiflora edulis* rind in spontaneously hypertensive rats. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, 70 (3), p. 718-721, 2006.
- LUTOMSKI, J. Pharmacochemical investigation of the raw materials from *Passiflora* genus. 2. The pharmacochemical estimation of juices from the fruits of *Passiflora edulis* and *Passiflora edulis* forma *flavicarpa*. **Planta Médica**. 27, p. 112-121, 1975.
- MACIEL, M.A.M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim Nova** 25: p. 429-438, 2002.
- MALUF, E. et al. Assessment of the hypnotic/sedative effects and toxicity of *Passiflora edulis* aqueous extract in rodents and humans. **Phytotherapy Research**, 5 (6), p.262-266, 1991.
- MELETTI, L.M.; MOLINA, M., **Maracujá: produção e comercialização**, Campinas, 64p., 1999.
- \_\_\_\_\_, **Propagação de frutíferas tropicais**. Guaíba, RS: Agropecuária, 190p, 2000.
- \_\_\_\_\_, et al. Caracterização fenotípica de três seleções de maracujazeiro-roxo(*Passiflora edulis* Sims) **Revista Brasileira de Fruticultura**, 27, n°2, p.268-272, 2005.
- MANICA, I. Importância econômica. In: **Fruticultura Tropical, Maracujá**. São Paulo: Ceres, p.1-17, 1981.

- \_\_\_\_\_, et al. **Maracujá: temas selecionados**. Cinco Continentes Editora, 70p, 1997.
- MARECK, U.; GALENSA, R.; HERRMANN, K. Identification of passionfruit juice in fruit products by HPLC. **Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung**. 191, p.269-274, 1990.
- MCCHESENEY, J.D.; VENKATARAMAN, S.K.; HENRI, J.T. Plant natural products: Back to the future or into extinction? **Phytochemistry** 68 p. 2015–2022, 2007.
- MOWREY, D., **Herbal Tonic Therapies**. Keats Publishing Incorporation, New Canaan, CT, 1993.
- NODARI, R. O. ; GUERRA, M. P.: **Biodiversidade**: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento, ed. por C. M. O. Simões, E. P. Schenkel, G. Gosmann, J. C. P. Mello, L. A. Mentz, e P. R. Petrovick, p. 11-24, Editora UFSC/Editora UFRGS, Florianópolis/Porto Alegre, 2003.
- NWOSU, M.O. Herbs for mental disorders. **Fitoterapia** 70, p.58–63, 1999.
- OGA, S. et al. Pharmacological trials of crude extract of *Passiflora alata*. **Planta Medica**, 27, p. 303-306, 1984.
- OLIVEIRA, L.F. et al. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* F. *flavicarpa*) para produção de doce em calda. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, 22(3), p.259-262, 2002.
- ORICHA, B.S. Herbal therapies: Are they alternative medicines or fastforward science? **Journal of Medicinal Plants Research** 3(6), p. 454-456, 2009.
- PETRY, R.D. et al. Comparative pharmacological study of hydroethanol extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* leaves. **Phytotherapy Research**, 15, p.162-164, 2001.
- PHILLIPSON, J. D.: 50 years of medicinal plant research - Every progress in methodology is a progress in science. **Planta Medica** 69 (6): p. 491-495, 2003.
- POLUNIN, M. ; ROBBINS, C.: **A farmácia natural: Guia de medicamentos naturais**, Dorling Kindersley, Londres, 1992.
- PROVENSÍ, G. et al. Avaliação do efeito ansiolítico de uma fração de flavonóides purificada de *Passiflora alata* Curtis (Passifloraceae). In: **XIV Jornadas de Jovens Pesquisadores da AUGM, 2006**, Campinas. Livro de Resumos, p. 426-426, 2006.
- RATES, S. M. K.: Plants as source of drugs. **Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology** 39: p. 603-613, 2001.

- REGINATTO, F. H. et al. Evaluation of anxiolytic activity of spray dried powders of two South Brazilian *Passiflora* species. **Phytotherapy Research**, 20(5), p.348-351, 2006.
- RENDLE, A.B. **Classification of Flowering Plants**. Cambridge University Press, Cambridge, p. 211–213, 1959.
- REZENDE, H.A.; COCCO M.I.M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Ver. Esc. Enferm. USP**; 36(3), p. 282-288, 2002.
- ROJAS, J. et al. Efecto antihipertensivo y dosis letal 50 del jugo del fruto y del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora edulis* (maracujá), en ratas. **An. Fac. Med.**, 67, n°3, 2006.
- RODRIGUES, E.; CARLINI, E.L.A. Levantamento etnofarmacológico realizado entre um grupo de quilombolas do Brasil. **Arquivos Brasileiros de Fitomedicina Científica** v.1, n.2, p. 80-87, 2003.
- ROWE, C.A. et al. Inhibition of neoplastic transformation of benzo[alpha]pyrene-treated BALB/c 3T3 murine cells by a phytochemical extract of passionfruit juice. **Journal of Medicinal Food**, 7(4), p.402-407, 2004.
- RUDNICKI, M et al.: Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. **Food Chemistry**, 100, p.719–724, 2007.
- \_\_\_\_\_, et al.: Protective effects of *Passiflora alata* extract pretreatment on carbon tetrachloride induced oxidative damage in rats. **Food and Chemical Toxicology**, 45, p.656–661, 2007.
- SATO, G.S.; CHABARIBERY, D.; JUNIOR, A.A.B. Panorama da produção e de mercado do maracujá. **Informações econômicas**, vol.22, n°6, 1992.
- SEAFORTH, C.E., ADAMS, C.D., SYLVESTER, Y.. **A Guide for the Medicinal Plants of Trinidad & Tobago**. Commonwealth Secretariate, Marlborough House, Pall Mall, London,1983.
- SENA, L.M. et al. Neuropharmacological Activity of the Pericarp of *Passiflora edulis* flavicapra Degener: Putative Involvement of C-glycosylflavonoids. **Exp. Biol.Med.** 234, p.967-975, 2009.
- SOUZA, J. S. I. ; MELETTI, L. M. M. **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. Piracicaba: FEALQ, p.179 , 1997.
- SPERONI, E. ; MINGHETTI, A. Neuropharmacological activity of extracts from *Passiflora incarnata*. **Planta Medica**, 54(6), p.488-491, 1988.
- STÉRU, L. et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, 85(3), p.367-70, 1985.

- SUNTORNUSUK, L. et al. Quantitation of vitamin C content in herbal juice using direct titration. **Pharm. and Biomed Anal.**, 28(5), p.848-855, 2002
- TAYLOR, L., **Maracuja, Herbal Secrets of the Rainforest**. Prime Publishing Inc., Austin, TX, 1996.
- TOMINAGA, T.; DUBOURDIEU, D. Identification of cysteinylated aroma precursors of certain volatile thiols in passion fruit juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48(7), p.2874-2876, 2000.
- TOMMONARO, G. et al. Chemical composition and biotechnological properties of a polysaccharide from the peels and antioxidative content from the pulp of *Passiflora ligularis* fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 55, p.7427-7433, 2007.
- TSUJI K.; TSUTANI K. Approval of new biopharmaceuticals 1999- 2006: Comparison of The US, EU and Japan situations. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** 68(3): p.496-502, 2008.
- VALLE, N. B. ; LEITE, J. R.: Efeitos psicofarmacológicos de preparações de *Passiflora edulis* (maracujá). **Ciência e Cultura** 35 (1): p.11-24, 1983.
- VIEIRA R.A. **Avaliação da possível atividade central da *Stachytarpheta cayenensis* (gervão-roxo)**. Dissertação de Mestrado em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil, 2001.
- WICHTL, M.: **Herbal drugs and phytopharmaceuticals: A handbook for practice on a scientific basis**, Medpharm Scientific Publishers, Boca Raton, 2004.
- YAMADA, C.S.B. **Fitoterapia sua história e importância**. Racine p. 50-51, 1998.