

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



EFEITO DO EXTRATO HIDROALCOOLICO DAS FOLHAS DE *Annona coriacea* MART. E DO SEU COMPOSTO MAJORITARIO O ACIDO CAFEICO SOBRE O LIMIAR DE CONVULSÕES INDUZIDAS POR PENTILENOTETRAZOL EM MODELOS MURINOS

Isaac Moura Araujo¹, Alex de Souza Borges², Paulo Ricardo Batista³, Gyllyandeson de Araujo Delmondes⁴, Daniel Souza Bezerra⁵, Giovana Mendes de Lacerda Leite⁶, Álefe Brito Monteiro⁷, Cicero Francisco Bezerra Felipe⁸, Marta Regina Kerntopf⁹

Resumo: A depressão é um transtorno mental comum e uma das mais principais causas de incapacidade no mundo. O seu tratamento é feito com medicamentos cujos efeitos levam cerca de três a quatro semanas para ocorrerem, além de apresentarem importantes efeitos adversos como as convulsões. Por estas razões, a busca por novas substâncias bioativas e que apresentem menor latência de ação e efeitos colaterais, vêm se consolidando nas últimas décadas. O gênero *Annona* tem espécies já estudadas sobre seu efeito no sistema nervoso central, contudo, a *Annona coriacea* Mart. (araticum), é uma Annonaceae ainda pouco estudada do ponto de vista farmacológico. Desta forma o presente trabalho teve como objetivo determinar o efeito sobre o limiar de convulsões induzidas por pentilenotetrazol do extrato hidroetanólico das folhas da *A. coriacea* M. (EHFAC) e seu composto fenólico majoritário ácido caféico (AC) em camundongos. A associação do EHFAC com a imipramina e a bupropiona reduziu o Tempo de Imobilidade (TI), o mesmo efeito foi observado com o AC. A associação do EHFAC à fluoxetina apresentou redução do TI quando comparado com o grupo controle salina, porém não foi observada a potencialização do efeito com a fluoxetina; contudo, a associação do AC à fluoxetina reduziu o TI em relação ao grupo salina. Em suma, o EHFAC apresentou efeito tipo antidepressivo em experimentos clássicos de investigação de compostos com provável ação antidepressiva-símile efeitos que podem ser justificados, em parte, pela presença do ácido caféico em sua composição.

Palavras-chave: *Annona coriacea*. Araticum. Ácido caféico. Antidepressivo.

1. Introdução

O dicionário Oxford define depressão como um estado de baixo ânimo ou baixa vitalidade, constituindo um transtorno mental comum e uma das mais responsáveis causas de incapacidade no mundo (WHO, 2010). Trata-se, portanto, de uma condição médica-psiquiátrica caracterizada como crônica e recorrente, e tem sido associada a altos riscos de suicídio e disfunção

¹ Universidade Regional do Cariri, email: isaac.faculdade@hotmail.com

⁹ Universidade Regional do Cariri, email: martaluiz@yahoo.com.br

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



psicossocial (POSTERNAK et al., 2006). Apesar da variedade medicamentosa existente, a busca por novas substâncias bioativas com maior seletividade e menor latência de ação, toxicidade e efeitos colaterais, vem se consolidando nas últimas décadas, na tentativa de solucionar o que ainda há de falho na terapia antidepressiva. Um efeito colateral causado por alguns antidepressivos são as convulsões (UNITED STATES PHARMACOPEIAL, 1999). A família Annonaceae possui distribuição pantropical com cerca de 112 gêneros e aproximadamente 2.150 espécies (MABBERLEY, 1997). Vários estudos demonstram a grande diversidade química presente no gênero *Annona*: alcaloides (BRITO et al., 2008; OVIEDO et al. 2009), flavonoides e taninos (BRITO et al., 2008; NUNES et al., 2012), monoterpênicos e sesquiterpênicos (SIQUEIRA et al., 2011), compostos fenólicos (AMADOR et al., 2006), fenóis (MALTA et al., 2007) entre outros. *Annona coriacea* (Mart.) Conhecida popularmente como "araticum" (do tupi e significa: "fruto de massa mole") no Nordeste é uma planta perene, arbustiva ou arbórea de 3-6 m de altura sem exsudação de látex no caule ou ao se destacar a folha, (ALMEIDA et al. 1998). Suas folhas são empregadas empiricamente como carminativa, estomáquica, antirreumática e anti-helmíntica por via oral e, externamente, em forma de bochechos e compressas, no tratamento de estomatite, nevralgias e cefaleias, respectivamente (SOUSA, 2003; LORENZI; MATOS, 2002). Suas folhas são empregadas empiricamente como carminativa, estomáquica, antirreumática e anti-helmíntica por via oral e, externamente, em forma de bochechos e compressas, no tratamento de estomatite, nevralgias e cefaleias, respectivamente (SOUSA, 2003; LORENZI; MATOS, 2002). Não há muitos trabalhos específicos para caracterização química dessa espécie. A espécie, também, carece de estudos farmacológicos, trabalhos descrevem que *A. coriacea* apresenta atividade antiprotozoária (SIQUEIRA et al., 2001), analgésica e anti-inflamatória (SOUSA et al., 2007), e biocida (CARNEIRO et al., 2011). O Ácido Cafeico (AC) é um composto fenólico também produzido pelo metabolismo secundário de plantas. Possui fórmula molecular $C_9H_8O_4$ e é o principal representante dos ácidos hidroxicínâmicos na dieta (SHI et al., 2003), é um composto comumente encontrado no café, maçã, pêra e uvas (SHI et al., 2003). Diversos estudos mostraram propriedades antioxidantes do AC (AMORATI et al., 2006). Outros estudos mostraram que o AC apresenta propriedades anti-inflamatórias (CHEN; TSAI; WU, 1995), antimutagênicas (YAMADA; TOMITA, 1996), antibacterianas (ANI; VARADARAJ; AKHILENDERNAIDU, 2006), anticarcinogênicas (KANG et al., 2009) e antidepressiva (TAKEDA et al., 2002). Os efeitos colaterais causados pela não seletividade da ação farmacológica dos antidepressivos, bem como a potencial letalidade em casos de superdosagem e o longo período de latência para o efeito terapêutico, comprometem a segurança e a aceitação do tratamento pelos pacientes

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



deprimidos. Por estas razões, apesar da variedade medicamentosa existente, a busca por novas substâncias bioativas com maior seletividade e menor latência de ação, toxicidade e efeitos colaterais, vem se consolidando nas últimas décadas, na tentativa de solucionar o que ainda há de falho na terapia antidepressiva. Assim, por não haver estudos sobre os aspectos químicos, toxicológicos e possível perfil antidepressivo para *A. coriacea* (Mart.) e o gênero *Annona* apontar relevantes propriedades em nível de sistema nervoso central, este trabalho representa um esforço no sentido de determinar o perfil fitoquímico e validar, principalmente, a atividade antidepressiva-símile do extrato hidroetanólico das suas folhas e seu composto majoritário (ácido caféico) de forma que possam vir a contribuir como futuras ferramentas a serem aplicadas na terapia antidepressiva.

2. Objetivo

Investigar o efeito do extrato e do ácido caféico sobre o limiar de convulsões induzidas por pentilenotetrazol

3. Metodologia

Para preparação do extrato, as folhas coletadas foram secas e diminuídas em seu tamanho para aumentar sua superfície de contato com a solução extratora (água destilada e etanol a 96%, na proporção de 1:1) em volume suficiente para submergir todo material vegetal, devidamente lacrados, por 72 horas. Após esse período, o líquido foi filtrado em papel filtro e concentrado em condensador rotativo a vácuo e banho-maria para liberação do solvente etanólico. O material remanescente desta separação foi, então, congelado. Feito isso, o extrato congelado foi liofilizado, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi utilizada para a quantificação dos ácidos fenólicos. O projeto foi aprovado pela Comissão de Experimentação e Uso de Animais (CEUA) da Universidade Regional do Cariri, sob parecer de processo nº 00253/2014.1. O efeito do extrato e ácido caféico sobre o limiar convulsivante foi avaliado através do modelo de convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) (LOWSON; GENT; GOODCHILD, 1990). Os animais (n=9) foram divididos e pré-tratados via intraperitoneal com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g), imipramina (30 mg/kg), bupropiona (20 mg/kg), fluoxetina (10 mg/kg), EHFAC (1 mg/kg) e AC (0,15 mg/kg). Decorridos 30 minutos, cada animal recebeu uma dose de PTZ 40 mg/kg (dose subconvulsivante); um grupo distinto recebeu salina mais PTZ 80 mg/kg como controle. Como parâmetros de avaliação foram observados a latência para o aparecimento da primeira convulsão (LC - em segundos) e a latência da morte (LM - em segundos). O tempo total de observação (*cut off time*) foi de 30 minutos. Os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média. As diferenças entre os grupos foram determinadas por meio da Análise de Variância (ANOVA), seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls e teste 't' post hoc para os resultados não paramétricos.

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



4. Resultados

A CLAE do extrato hidroetanólico das folhas da *Annona coriacea* indicou o ácido caféico como composto majoritário. Nesse protocolo uma dose não convulsivante de PTZ (40 mg/kg) foi administrada de forma isolada e associada à imipramina 30 mg/kg, bupropiona 20 mg/kg, fluoxetina 10 mg/kg, EHFAC 1 mg/kg e AC 0,15 mg/kg, em grupos distintos de animais. O PTZ 40 mg/kg ($1800 \pm 0,0$) administrado isoladamente, ou associado à bupropiona ($1800 \pm 0,0$), à fluoxetina ($1800 \pm 0,0$), ao EHFAC 1 mg/kg ($1800 \pm 0,0$) e ao AC 0,15 mg/kg ($1800 \pm 0,0$) aumentaram, de forma igual e significativa, a latência para a primeira convulsão (LC) em 95% em relação ao grupo tratado com PTZ 80 mg/kg ($88,56 \pm 1,556$). Por outro lado, quando associado à imipramina 30 mg/kg ($161,3 \pm 10,13$) esse parâmetro foi reduzido em 91% quando comparado aos grupos que não sofreram convulsões. Embora esse modelo não avalie propriedades neuroprotetoras, no parâmetro latência da morte (LM), observa-se que apenas o grupo PTZ 80 mg/kg ($600,0 \pm 31,30$) apresentou efeito neurotóxico. Os resultados mostram que o EHFAC 1 mg/kg e AC 0,15 mg/kg não compartilham do efeito tóxico da imipramina, a convulsão. Estes dados podem ser justificados, em parte, pela presença do ácido caféico em sua composição, já que os mesmo não se diferenciaram em seu efeito. Rodrigues (2015), também, demonstrou que as doses 5, 10 e 20 mg/kg do extrato hidroalcoólico das folhas da *A. muricata* não reduzem a latência para a primeira convulsão quando associadas ao PTZ 40 mg/kg.

5. Conclusão

O EHFAC e o ácido caféico são desprovidos de efeitos adversos clássicos comumente associados a antidepressivos tricíclicos como a convulsão.

6. Agradecimentos

Agradeço as agências de fomento FUNCAP e CNPq.

7. Referências

- ALMEIDA, S. D.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: espécies vegetais úteis. **Planaltina: Embrapa-CPAC**, v. 464, 1998.
- AMORATI, R.; PEDULLI, G. F.; CABRINI, L.; ZAMBONIN, L.; LANDI, L. Solvent and pH effects on the antioxidant activity of caffeic and other phenolic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 8, p. 2932-7, 2006.
- ANI, V.; VARADARAJ, M. C.; AKHILENDER-NAIDU, K. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenolic compounds from bitter cumin (*Cuminum nigrum* L.). **European Food Research and Technology**, v. 224, p. 109-15, 2006.
- BRITO, H. O., NORONHA, E. P., FRANÇA, L. M., BRITO, L. M. O.; PRADO, M. S. A. Análise da composição fitoquímica do extrato etanólico das folhas da *Annona squamosa* (ATA). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 3, p. 180-184, 2008.
- CARNEIRO, A. P.; PEREIRA, M. J. B.; GALBIATI, C. Biocide activity of *Annona coriacea* seeds extract on *Rhodnius neglectus* (Hemiptera: Reduviidae). **Revista de Biologia Tropical**, v. 61, n. 1, p. 419-427, 2013.
- CHEN, Y. F.; TSAI, H. Y.; WU, T. S. Anti-inflammatory and analgesic activities from roots of *Angelica pubescens*. **Planta Medica**, v. 61, n. 1, p. 2-8, 1995.

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



- KANG, N. J.; LEE, K. W.; SHIN, B. J.; JUNG, S. K.; HWANG, M. K.; BODE, A. M.; et al. Caffeic acid, a phenolic phytochemical in coffee, directly inhibits Fyn kinase activity and UVB-induced COX-2 expression. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 2, p. 321-30, 2009.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p. 62-63, 2002.
- LOWSON, S.; GENT, J. P.; GOODCHILD, C. S. Anticonvulsant properties of propofol and thiopentone: comparison using two tests in laboratory mice. **British Journal of Anaesthesia**, v. 64, n. 1, p. 59-63, 1990.
- MALTA, L. G.; ROESLER, R.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Antioxidant activity of cerrado fruits. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.
- NUNES, C. R.; BERNARDES, N. R.; GLÓRIA, L. L.; OLIVEIRA, D. B. Flavonoids in Annonaceae: occurrence and biological properties. **Vértices**, Campos dos Goytacazes/RJ, v.14, n. 1, p. 39-57, 2012.
- OVIEDO, V.; GARCÍA, M; DÍAZ, C.; MARDER, M.; COSTA, M.; RINCÓN, J.; SÁNCHEZ, C.; GUERRERO, M. Extracto y fracción alcaloidal de *Annona muricata* con actividad de tipo ansiolítica em ratones. **Revista Colombiana de Ciencias Químico – Farmacéuticas**, v. 38, n. 1, p. 105-120, 2009.
- POSTERNAK, M. A.; SOLOMON, D. A.; LEON, A. C.; MUELLER, T. I.; SHEA, M. T.; ENDICOTT, J.; KELLER, M. B. The naturalistic course of unipolar major depression in the absence of somatic therapy. **The Journal of nervous and mental disease**, v. 194, n. 5, p. 324-329, 2006.
- RODRIGUES, C. K. S. **Caracterização do efeito antidepressivo-símiles do extrato hidroetanólico das folhas de *Annona muricata* L. (graviola)**. (In press) Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri - URCA, 2015.
- SHI, J.; YU, J.; POHORLY, J. E.; KAKUDA, Y. Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. **Journal of Medicinal Food**, v. 6, n. 4, p. 291-9, 2003.
- SIQUEIRA, C. A. T.; OLIANI, J.; SARTORATTO, A.; QUEIROGA, C. L.; MORENO, P. R. H.; REIMÃO J. Q.; TEMPONE, A. G.; FISCHER, D. C. H. Chemical constituents of the volatile oil from leaves of *Annona coriacea* and *in vitro* antiprotozoal activity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 1, 2011.
- SOUSA, O. V. **Atividades farmacológicas de produtos obtidos de *Duguetia lanceolata* e *Annona coriacea* - Annonaceae**. Tese (Doutorado em Biotecnologia Vegetal) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, f. 143, 2003.
- SOUSA, O. V.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; KAPLAN, M. A. C. Propriedades Analgésica e Antiinflamatória do Extrato Metanólico de Folhas de *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 6, p. 872-7, 2007.
- TAKEDA, H.; TSUJI, M.; INAZU, M.; EGASHIRA, T.; MATSUMIYA, T. Rosmarinic acid and caffeic acid produce antidepressive-like effect in the forced swimming test in mice. **European journal of pharmacology**, v. 449, n. 3, p. 261-267, 2002.
- UNITED STATES PHARMACOPEIAL. Dispensing Information (USP-DI). **Drug Information for the Health Care Professional**. Massachusetts: World Color Book Services, 1999.
- WHO World Health Organization. **Ten Statistical Highlights in Global Public Health**. <http://www.who.inturveydata.who.int/topics/depression/>, p. 16, 2010.
- YAMADA, J.; TOMITA, Y. Antimutagenic activity of caffeic acid and related compounds. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 60, n. 2, p. 328-9, 1996.