

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"



AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E EFEITO ANSIOLÍTICO DE *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex P. Wilson EM CAMUNDONGOS

Sara Tavares de Sousa Machado¹, Jéssica Pereira de Sousa², Paulo Ricardo Batista³, Cícero Damon Carvalho de Alencar⁴ Marta Regina Kerntopf⁵

Resumo: O presente estudo teve como objetivo caracterizar a atividade ansiolítica do Decocto das Folhas de *Lippia alba* (DFLA) em camundongos. Para o desenvolvimento dos experimentos, foram selecionados camundongos da espécie *Mus musculus*, linhagem *Swiss*, fêmeas, com pesos compreendidos entre 25 e 30 gramas. Os protocolos farmacológicos desenvolvidos foram DL50 para determinação da toxicidade do material testado e labirinto em cruz elevado e campo aberto para investigação da atividade ansiolítica. A dose letal média (DL₅₀) foi estimada em ≥ 2.000 mg/Kg. O DFLA apresentou um discreto efeito ansiolítico e sedativo nos modelos de campo aberto e labirinto em cruz elevado, sendo as doses 100 e 200 mg/Kg mais eficaz em ambos protocolos, no entanto não apresentou efeito na placa perfurada e no rota rod. Percebe-se que os pacientes entrevistados utilizam plantas para o tratamento da ansiedade, mesmo estes tendo acesso aos fármacos. O DFLA possui baixa toxicidade e discreto efeito ansiolítico e sedativo.

Palavras-chave: Farmacognosia. *Lippia alba* (Mill.) Transtornos de ansiedade.

1. Introdução

Transtornos de ansiedade são caracterizados por fortes emoções promovidas por situações que representam perigo, embasado na reação de luta e fuga, e dependendo do grau de manifestação, deixa de ser uma condição adaptativa tornando-se um desequilíbrio psiquiátrico (STAHL, 2010).

No tratamento farmacológico da ansiedade, os primeiros fármacos utilizados foram os barbitúricos, que apesar da eficácia, provocavam toxicidade elevada, levando a sua substituição. A descoberta dos benzodiazepínicos marcou o curso da história do tratamento da doença e na compreensão do envolvimento e funcionamento do mecanismo GABAérgico (DINAN, 2006). Mesmo assim, durante o tratamento com os benzodiazepínicos podem surgir os efeitos colaterais (KATZUNG et al., 2014). Diante desta problemática, há interesse quanto à obtenção de novas drogas utilizadas no tratamento dos transtornos ansiosos, mais seguros, de maior eficácia e com boas perspectivas quanto a medidas alternativas de tratamento (COSTA et al., 2014), como é o caso de plantas medicinais.

1 Universidade Regional do Cariri, email: saratavares17@hotmail.com

2 Universidade Regional do Cariri, email: jessy.jsp@hotmail.com

3 Universidade Regional do Cariri, email: pauloricardoadauto@outlook.com

4 Universidade Regional do Cariri, email: damon.alencar12@gmail.com

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

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"



Nesse cenário, a espécie *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. ex P. Wilson, conhecida popularmente como cidreira ou erva-cidreira, é uma planta de real importância farmacológica, com utilização em programas de fitoterapia. Embora a importância desta espécie no uso popular seja registrada na literatura, ainda poucas são as pesquisas que evidenciam as propriedades farmacológicas relacionadas aos extratos da *L. alba*.

2. Objetivo

O presente estudo teve como objetivo caracterizar a atividade ansiolítica do Decocto das Folhas de *Lippia alba* (DFLA) em camundongos.

3. Metodologia

Para realização dos protocolos, foram utilizados camundongos *Swiss* albinos (*Mus musculus*), adultos, fêmeas com massa corpórea variando entre 25±5 g.

A avaliação da toxicidade aguda da administração oral do DFLA e estipulação da Dose Letal Média (DL₅₀) seguiu a diretriz nº 423 da *Organization for Economic Cooperation and Development* – OECD (OECD 423, 2001).

Os animais foram organizados em grupos (n=3) e tratados via oral (v.o.) com o DFLA na dose 2.000 mg/Kg e salina 0,9% (0,1 mL/10g). Após o tratamento os animais foram observados em intervalos regulares (5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos) e, a partir de então, diariamente, até o décimo quarto dia. Todos os sinais de toxicidade, a época do seu aparecimento, intensidade, duração e progressão dos mesmos foram registrados seguindo o método do *screening* hipocrático proposto por Malone (1977).

Para avaliação da atividade exploratória, ansiolítica (ARCHER, 1973) e locomotora (COURVOISIER et al., 1996), foi inicialmente teste realizado o teste de campo aberto. Os animais foram separados em grupos (n=7) e tratados, via oral (v.o.), com salina 0,9% (0,1 mL/10g), DFLA (nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg) e diazepam 2 mg/kg via intraperitoneal (i.p.). Após 30 min da administração do Diazepam e 1 h da administração da salina e DFLA, os animais foram colocados individualmente no centro do campo aberto. Durante cinco minutos registraram-se os seguintes parâmetros: 1. Número de cruzamentos (NC); 2. Número de *grooming* (NG); 3. Número de *rearing* (NR).

Posteriormente, foi realizado o teste do labirinto em cruz elevado, que é considerado um dos principais modelos para avaliar compostos com propriedade ansiolítica (PELLOW et al., 1985). O aparelho consiste em dois braços abertos (32 x 6 cm) e dois fechados (31 x 7x27cm), ambos opostos, em forma de cruz, conectados por uma plataforma central (5 x 5 cm), elevado a uma altura de 45 cm do nível do chão (LISTER, 1987). Os animais foram separados em grupos (n=7) e tratados, pela via oral (v.o.), com salina 0,9% (0,1 mL/10g), DFLA (nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg) e diazepam 1 mg/kg via intraperitoneal (i.p.). Após 30 min da administração do diazepam e 1 h da administração da salina e DFLA, os animais foram colocados individualmente no centro do aparelho. Durante cinco minutos foram registrados os seguintes parâmetros: 1. Número de Entradas nos Braços Abertos (NEBA); 2. Número de Entradas nos Braços

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"



Fechados (NEBF); 3. Tempo de Permanência nos Braços Abertos (TPBA); 4. Tempo de Permanência nos Braços Fechados (TPBF).

4. Resultados

Foi estipulada uma $DL_{50} \geq 2.000$ mg/Kg, a partir da avaliação do DFLA quanto a sua toxicidade e alterações comportamentais.

Após a administração oral do DFLA, observou-se que não houve diferença significativa do NC dos animais tratados com decocto nas doses 50 mg/kg ($59,5 \pm 9,10$) e 100 mg/kg ($46 \pm 22,4$), em relação ao grupo tratado com salina ($68,1 \pm 8,8$). Por outro lado, a dose de 200 mg/kg reduziu significativamente o parâmetro em questão ($34,7 \pm 16,1$) em 49,7% comparado ao grupo controle (Figura 1).

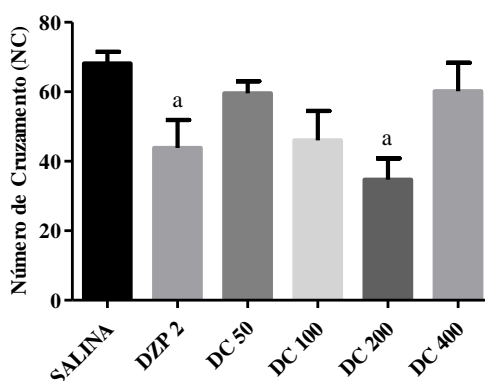


Figura 1: Efeito do DFLA sobre o NC no teste de Campo Aberto.

No número de *rearing*, observou-se que, não houve diferença significativa do comportamento de exploração vertical do DFLA 50 mg/kg ($4,4 \pm 2,9$) e 100 mg/kg ($4,5 \pm 2,5$) em relação ao grupo salina ($7 \pm 4,6$) no entanto, a dose 200 mg/kg ($0,8 \pm 1,5$) reduziu de forma significativa esse parâmetro (87,7%), enquanto o grupo diazepam 2 mg/kg ($1,7 \pm 2,8$) diminuiu 75,5% quando comparados ao grupo salina. O decocto na dose de 50 mg/kg ($1,5 \pm 1,1$) não alterou o número de *grooming*, a alteração ocorreu apenas nas doses 100 mg/kg ($0,4 \pm 0,5$) e 200 mg/kg ($0,8 \pm 0,6$), em 75,3% e 50% respectivamente (Figura 2).

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"

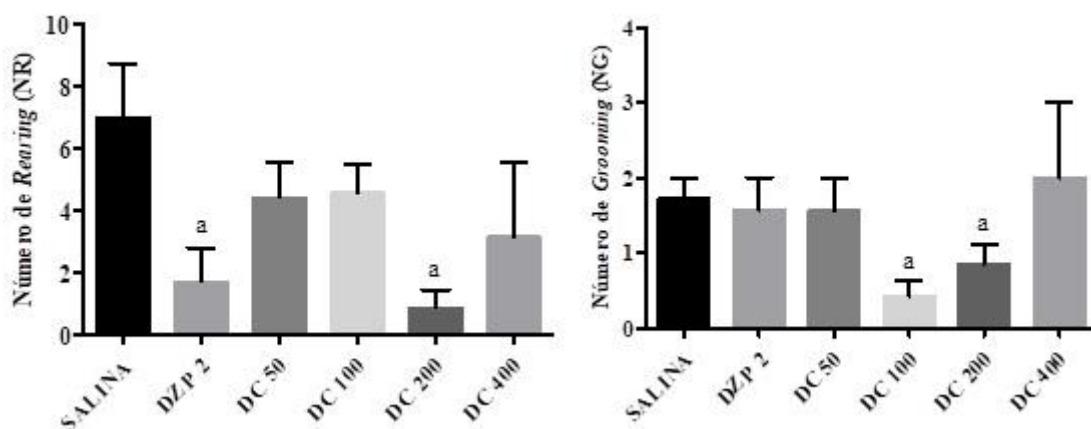


Figura 2: Efeito do DFLA sobre o NC e NG no teste de campo aberto

Nos testes de labirinto em cruz elevado, após a administração oral do DFLA, a dose de 50 mg/kg ($2,1 \pm 1,2$) observou-se que não houve diferença no NEBA. No entanto, as doses de 100 e 200 mg/kg do decocto, ($3,4 \pm 1,3$; $3,7 \pm 1,3$, respectivamente) aumentaram esse parâmetro de forma em 58,3% e 61,5% quando comparado ao salina, enquanto o grupo tratado com diazepam 1 mg/kg ($8,429 \pm 1,397$), aumentou NEBA em 85,5% (Figura 3). Em relação ao NEBF, o decocto nas doses 50, 100 e 200 mg/kg ($7,2 \pm 2,4$; $8,4 \pm 1,7$; $8,1 \pm 1,9$) não apresentaram diferenças estatísticas em relação ao grupo salina ($10,7 \pm 1,6$).

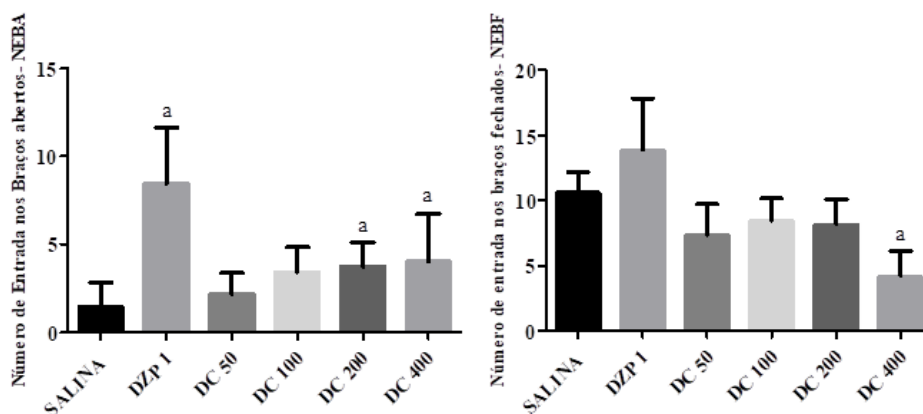


Figura 3: Efeito do DFLA sobre o NEBA e NEBF no teste de labirinto em cruz elevado

Com relação ao TPBA as doses de 50, 100 e 200 mg/kg ($27,2 \pm 22,1$; $67,7 \pm 34,6$; $18,14 \pm 4,2$) não apresentaram diferença estatisticamente significativa em comparação com o controle ($27,2 \pm 22,18$). Enquanto o grupo tratado com diazepam 1 mg/kg ($67,71 \pm 34,6$) aumentou em 59,7% em relação ao controle salina (Figura 4). Referente TPBF, não houve efeito das doses testadas do DFLA de 50, 100 e 200 mg/kg quando comparado ao grupo salina. O grupo diazepam 1 mg/kg ($118,4 \pm 34,29$) reduziu esse parâmetro em 26,05% em relação ao controle (Figura 4).

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"

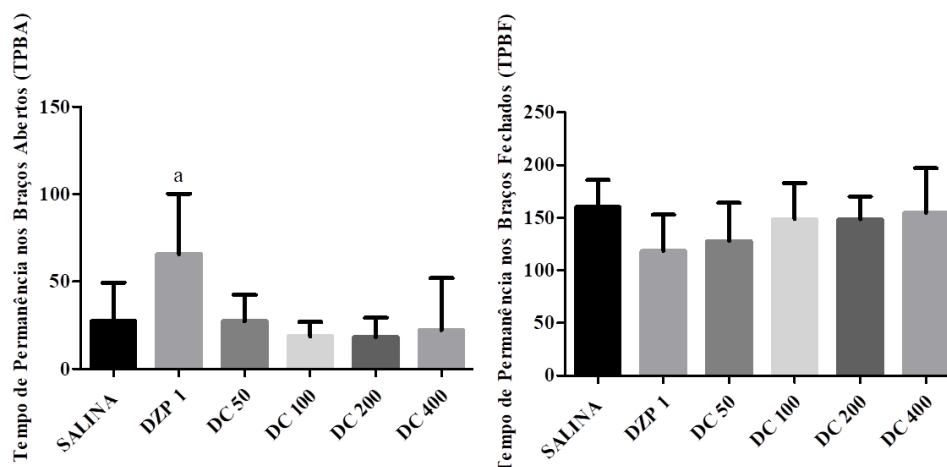


Figura 4: Efeito do DFLA sobre o TPBA e TPBF no teste de labirinto em cruz elevado

5. Conclusão

O DFLA teve sua DL_{50} estipulada em aproximadamente 2.000 mg/Kg, sendo dotado de baixa toxicidade. Ainda, o DFLA apresentou discreto efeito ansiolítico e sedativo, porém não alterou a coordenação motora dos animais, demonstrando que a espécie é promissora a novas drogas. Estudos subsequentes são, no entanto, necessários para verificar os prováveis mecanismos de ação do decocto de *Lippia alba* e para elucidar quais princípios ativos estão envolvidos nessa atividade central.

6. Agradecimentos

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelo auxílio financeiro para realização da presente pesquisa.

7. Referências

- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal Behaviour**, vol. 21, n. 2, p. 205-35, 1973.
- COSTA, J. P.; OLIVEIRA, G. A. L.; ALMEIDA, A. A. C.; ISLAM, M. T.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Anxiolytic-like effects of phytol: Possible involvement of GABAergic transmission **Brain Research**, vol. 1547, p. 34-42, 2014.
- COURVOISIER, H.; MOISAN, M.P.; SARRIEAU, A.; HENDLEY, E.D.; MORMÈDE, P. Behavioral and neuroendocrine reactivity to stress in the WKHA/WKY inbred rat strains: a multifactorial and genetic analysis. **Brain Research**, vol. 743, n. 1-2, p. 77-85, 1996.
- DINAN, T. Therapeutic options: Addressing the current dilemm. **European Neuropsychopharmacology**, vol.16, p. S119–S127, 2006.
- KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B. **Farmacologia Básica & Clínica**. 12^a edição. Editora Mcgraw-hill interamericana. 2014

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino,
pesquisa e extensão"



LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, vol. 92, n. 2, p. 180-185, 1987.

MALONE, M. H. Pharmacological approaches to natural product and evaluating. In: Wasner H, Walff LP. **Natural products and plant drugs with pharmacological biological or terapeutical activity**. Berlin: Spring Verlag, p.23-56, 1977.

OECD - Organization for Economic Co-operation and Development, Guideline 425: **Acute Oral Toxicity: Modified Up-and-Down Procedure**. 2008.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY.; M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of neuroscience methods**, v. 14, n. 3, p. 149-167, 1985.

STAHL, S. **Psicofarmacologia: Bases Neurocientíficas e Aplicações Práticas**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2014.