

## AVALIAÇÃO DO EFEITO ANSIOLÍTICO DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DE *Piper tuberculatum* JACQ. EM CAMUNDONGOS

Sara Tavares de Sousa Machado<sup>1\*</sup>; Jéssica Pereira de Sousa<sup>2</sup>; Gyllyanderson de Araújo Delmondes<sup>3</sup>; Marta Regina Kerntopf<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Curso de Ciências Biológicas, <sup>2</sup>Mestranda- UFRPE, <sup>3</sup>Mestrando-URCA,

<sup>4</sup>Departamento de Química Biológica/Orientadora. E-mail: saratavares17@hotmail.com

### RESUMO

O gênero *Piper*, pertencente à família Piperaceae, constitui um gênero importante como fonte de espécies medicinais. Dentre as espécies deste gênero encontra-se *Piper tuberculatum* Jacq., conhecida popularmente como pimenta de macaco, utilizada na medicina popular como sedativo e no tratamento de problemas estomacais. O presente trabalho objetivou avaliar os efeitos ansiolíticos do óleo essencial de *P. tuberculatum* Jacq. em camundongos. Esse estudo trata-se de uma pesquisa de caráter experimental, onde foram usados camundongos *Swiss* fêmeas (*Mus musculus*). O instrumento de coleta de dados se deu através dos modelos farmacológicos in vivo, através dos quais foram observados os efeitos centrais da administração do óleo essencial dos frutos da *P. tuberculatum* em camundongos, através da observação das alterações comportamentais em diferentes modelos experimentais de ansiedade, labirinto em cruz e campo aberto elevado. No teste hipocrático, o OEPT apresentou efeito depressor central, sendo dotado de toxicidade moderada. Sua DL50, foi de aproximadamente 5000 mg/kg, quando administrado por via, i.p. Nos testes comportamentais, o OEPT foi obtido efeito sedativo, ansiolítico.

**Palavras chave:** *Piper tuberculatum*; ansiedade; plantas medicinais.

### INTRODUÇÃO

A ansiedade é definida como uma sensação complexa e desagradável, que indica a sensação da presença de algum 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 (BARRETO e PEREIRA, 2008; CASTILLO et al., 2000).

A partir disso foram desenvolvidos métodos eficazes que podem ser implementados no tratamento da ansiedade, como a farmacoterapia e a psicoterapia (MARTIN et al., 2007). Porém, é um tratamento “de risco”, uma vez que pode gerar dependência, depressão das funções do SNC, efeitos amnésicos e depressão aditiva do SNC em associação com outras substâncias (KATZUNG et al., 2014). Além disso, em casos de suspensão abrupta da medicação há o risco do desenvolvimento da síndrome de privação, que consiste na perda de apetite, irritabilidade, confusão e cefaleias (NICOLINI et al., 2009). Neste sentido, a etnofarmacologia tem ganhado destaque nos últimos anos com a exploração de plantas com potencial farmacológico, representando um avanço na melhoria do tratamento dos distúrbios do sistema nervoso central e surgindo como tratamento complementar (SOUSA et al., 2008).

Entre as plantas que apresentam potencial efeito no sistema nervoso central estão às espécies pertencentes à família Piperaceae, especialmente as espécies pertencentes ao gênero *Piper*, a exemplo, temos a espécie *P. tuberculatum* Jacq., conhecida popularmente como pimenta de macaco. Dentre a sua composição destaca-se a piperartina uma alcalóide encontrada em várias espécies de piperáceas, esse composto isolado apresentou diversas atividades biológicas, incluído efeito ansiolítico, antidepressivo (FELIPE et al., 2007) atividade citotóxica e antitumoral (DUH; WU, 1990; KONG, 2008).

Atualmente, as pesquisas conduzidas com os óleos essenciais e extratos vegetais ampliaram as series de ações biológicas para o controle de diversas doenças. Considerando a necessidade de novas substâncias vegetais que possuam atividade no tratamento de doenças relacionadas ao sistema nervos centrais, este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos ansiolíticos do óleo essencial de *P. tuberculatum* Jacq. em camundongos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para os experimentos de toxicidade aguda e comportamentais foram usados camundongos *Swiss* fêmeas (*Mus musculus*) com peso entre 20 e 30 gramas tratados com doses crescentes do óleo essencial de *P. tuberculatum* Jacq. (OEPT) (10, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 e 5000 mg/kg), e observados nos seguintes tempos após o tratamento; 10 min., 30 min., 60 min., 120 min., 180 min., 240 minutos, e por 14 dias consecutivos.

Em seguida, foi realizado o teste do labirinto em cruz elevado, o aparelho consiste de dois braços abertos (32 x 6 cm) e dois fechados (31 x7x27cm), 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). Após 30 minutos do tratamento por via i.p., com veículo, OEPT (25, 50, 100, 200 e 400mg/kg) e DZP 1 mg/kg, os animais foram colocados individualmente no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados. Durante cinco minutos registrou-se os seguintes parâmetros: número de entradas nos braços abertos (NEBA), número de entradas nos braços fechados (NEBF), tempo de permanência nos braços abertos (TPBA), tempo de permanência nos braços fechados (TPBF).

Posteriormente foi realizado o teste de Campo Aberto (CA) para avaliar a atividade exploratória, ansiolítica (ARCHER, 1973) e locomotora (COURVOISIER et al., 1996). O equipamento foi feito de vidro (paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm) e dividido em nove quadrantes iguais. Após 30 minutos do tratamento via intraperitoneal (i.p.), com veículo, OEPT (25, 50, 100, 200 e 400mg/kg) e diazepam (DZP) 1 mg/kg, os animais foram colocados individualmente no centro do campo aberto.

Foram observados os seguintes parâmetros: número de cruzamentos (NC), quando o camundongo estiver com as quatro patas dentro do mesmo quadrante e cruzava para outro, *rearing* (NR) postura na qual o animal fica na posição vertical, apoiado somente pelas patas traseiras sem encostar-se às paredes e *grooming* (NG), ação de auto-limpeza, durante 5 minutos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais tratados com as doses do OEPT (10, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 e 5000 mg/kg) via i.p , apresentaram algumas alterações comportamentais que indicaram efeito depressor no sistema nervoso central, como, ambulação reduzida e sedação. Houve morte apenas nas doses de 1000 mg/kg e 5000 mg/kg, de 25% e 50% respectivamente.

No labirinto em cruz elevado foi observado um aumento no NEBA, nas doses: 25 mg/kg ( $4,6 \pm 0,4$ ); 50 mg/kg ( $4,6 \pm 0,2$ ); 100 mg/kg ( $4,2 \pm 0,4$ ); 200 mg/kg ( $5,1 \pm 0,2$ ) e 400 mg/kg ( $5,1 \pm 0,5$ ) em relação ao controle salina ( $2,6 \pm 0,3$ ). O grupo tratado com DPZ 1 mg/kg ( $12,4 \pm 1,1$ ), aumentou o NEBA em 376, 9%, comparado ao controle salina. Em relação ao NEBF foi observado redução desse parâmetro dos grupos tratados com o OEPT nas doses: 25 mg/kg ( $9,8 \pm 0,5$ ), 50 mg/kg ( $9,4 \pm 0,3$ ), 100 mg/kg ( $9,2 \pm 0,2$ ), 200 mg/kg ( $9,3 \pm 0,5$ ) e 400 mg/kg ( $9,1 \pm 0,2$ ), em relação ao controle salina ( $13,2 \pm 0,5$ ). Além disso, o grupo tratado com DZP 1 mg/kg ( $8,6 \pm 1,3$ ), reduziu o NEBF em 34,8% em relação ao controle salina.

Com relação ao TPBA foi visto um aumento deste parâmetro nas doses de 25 mg/kg ( $59,7 \pm 11,8$ ); 50 mg/kg ( $61,2 \pm 6,6$ ); 100 mg/kg ( $67 \pm 6,9$ ); 200 mg/kg ( $72 \pm 6,4$ ) e 400 mg/kg ( $64,7 \pm 6,9$ ) em relação ao controle salina ( $28,5 \pm 2,5$ ). O grupo tratado com DZP 1 mg/kg ( $179,2 \pm 15,6$ ), aumentou o TPBA em 528,7%, comparado ao controle salina. Referente ao TPBF foi observado redução desse parâmetro dos grupos tratados com o OEPT nas doses: 25 mg/kg ( $166,9 \pm 6,0$ ), 50 mg/kg ( $166,1 \pm 8,4$ ), 100 mg/kg ( $166,7 \pm 3,5$ ), 200 mg/kg ( $156,3 \pm 9,3$ ) e 400 mg/kg ( $156,3 \pm 9,0$ ) quando comparado ao controle salina ( $200,1 \pm 5,2$ ). Com o grupo tratado com DZP 1 mg/kg ( $82,7 \pm 11,6$ ), houve redução do TPBF em 58,6% em relação ao controle salina.

Com a administração do OEPT, foi visto um aumento significativo no NEBA e no TPBA, assim como no grupo tratado com diazepam 1 mg/kg. Para Treit et al (1993), os animais tratados e submetidos ao experimento, que passarem mais tempo nos braços abertos e entrarem mais vezes, são considerados menos ansiosos. Esse comportamento foi comprovado com a utilização de drogas ansiolíticas, como, o diazepam, clonazepam, bromazepam e alprazolam. Esses dados fornecem evidências de que o OEPT tenha provável ação tipo ansiolítica.

No teste de campo aberto, após o tratamento com o OEPT foi verificado uma redução significativa do número de cruzamentos nas doses: 50 mg/kg ( $60,8 \pm 2,4$ ); 100 mg/kg ( $55,6 \pm 1,2$ ); 200 mg/kg ( $56,6 \pm 1,8$ ) e 400 mg/kg ( $47,8 \pm 1,9$ ) em relação ao controle salina ( $78,2 \pm 3,3$ ), respectivamente em 22,3%; 29 %, 27,6 % e 38,8%. O DZP 1 mg/kg ( $63,0 \pm 3,1$ ), reduziu o NC em 19,4%, comparado ao controle salina. Com relação ao número de *grooming*, o OEPT promoveu redução significativa desta atividade nos grupos tratados com as doses: 25 mg/kg ( $2,8 \pm 0,3$ ); 50 mg/kg ( $2,6 \pm 0,2$ ); 100 mg/kg ( $2,0 \pm 0,2$ ); 200 mg/kg ( $2,0 \pm 0,2$ ) e 400 mg/kg ( $1,4 \pm 0,1$ ), em relação ao controle salina ( $4,4 \pm 0,5$ ), respectivamente em 36,3%; 40,9 %; 54,5%; 54,5 % e 68,1%. O DZP 1 mg/kg ( $1,7 \pm 0,2$ ), reduziu em 61,3% comparado ao controle salina. Da mesma forma, o número de *rearing* (NR), foi reduzido nos grupos tratados com OEPT nas doses: 50 mg/kg ( $2,4 \pm 0,7$ ); 100 mg/kg ( $2,5 \pm 0,3$ ); 200 mg/kg ( $2,6 \pm 0,4$ ) e 400 mg/kg ( $1,2 \pm 0,3$ ) em relação ao controle salina ( $4,4 \pm 0,4$ ), respectivamente em, 45,4%; 43,1%; 40,1% e 72,7%. O DZP 1 mg/kg ( $1,0 \pm 0,2$ ), reduziu em 77,2% comparado ao controle salina.

Essa supressão da atividade locomotora foi observada em outros trabalhos com animais tratados com drogas utilizadas para o tratamento de distúrbios mentais (ARGAL et al., 2006), assim como com óleos essenciais que contenham compostos derivados dos terpenos (MARQUES et al., 2013; MAMUN et al., 2011). O número de cruzamentos também pode ser alterado por drogas que promovam o relaxamento muscular periférico (ARCHER, 1973).

Alguns autores defendem que o aumento no número de *grooming* e *rearing*, podem ser explicados pelo estresse quanto pela ansiedade que os animais estão submetidos (LISTER et al., 1987), e a administração de drogas ansiolíticas pode reduzir o *rearing*, parâmetro ligado com o nível de excitabilidade central (CUNHA & MASUR, 1978). Quanto ao *grooming*, este comportamento é comumente exibido por roedores que estão apreensivos, numa situação que provoque conflito e medo, mas que quando tratados com drogas ansiolíticas também reduzem este comportamento (BARROS et al., 1994; MOODY et al., 1988).

## CONCLUSÃO

O OEPT exibiu efeito depressor central e toxicidade, sendo a DL50 igual ou superior a 5000 mg/kg, via intraperitoneal. Apresentou efeito tipo ansiolítico. No entanto, uma investigação mais detalhada deverá ser realizada para avaliar sua aplicação no futuro, bem como a realização de estudos fitoquímicos.

## REFERENCIAS

- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal Behaviour**, vol. 21, n. 2, p. 205-35, 1973.
- ARGAL, A.; PATHAK, A. K. CNS activity of *Calo- tropis gigantea* roots. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 106, n. 1, p. 142-145, 2006.
- BARRETO, R. C.; PEREIRA GAS. Farmacoterapia na clínica Odontológica. 1ª Ed. Editora Universitária (UFPB). João Pessoa, 2008. 472.p
- BARROS, H.M; TANNHAUSER, S. L.; TANNHAUSER, A. L. The effects of GABAergic
- BENÍTEZ, N. P.; MELENDEZ, E.; STASHENKO, E. E. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de hojas de *Piper lanceaefolium*, planta usada tradicionalmente en Colombia. **Boletín Latino americano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, vol. 8, n. 4, p. 301-304, 2009.
- CASTILLO, A. R. G.; RECONDO, R.; ASBAHR, F. R.; MANFRO, G. G. Transtornos de ansiedad. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 22, 20-23. 2000.
- 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.
- CUNHA, J. M.; MASUR, J. Evaluation of Psychotropic Drugs with a Modified Open Field Test. **Pharmacology**, vol. 16, n. 5, p. 259-267, 1978.
- CYSNE, J. B.; CANUTO, K. M.; PESSOA, O. D. L.; NUNES, E. P.; SILVEIRA, E. R. Leaf essential oils of four *Piper* species from the State of Ceará-Northeast of Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, vol. 16, n. 6, p. 1378-1381, 2005.
- DUH, C.; WU, Y. Cytotoxic pyridone alkaloids from the leaves of *Piper aborescens*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 6, p. 1575-1577, 1990.
- FELIPE, C.; SOUSA-FILHO, T.; SOUZA, L. E. O.; SILVEIRA, A. J.; UCHOA, E. A.; SILVEIRA, R. E.; PESSOA, D. L. O.; BARROS, G. S. V. Piplartine, an amide alkaloid from *Piper tuberculatum*, presents anxiolytic and antidepressant effects in mice. **Phytomedicine**, vol. 14, n. 9, p. 605-612, 2007.
- KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B. **Farmacologia Básica & Clínica**. 12ª edição. Editora Mcgraw-hill interamericana. 2014.
- KONG, E. H.; KIM, Y. J.; KIM, Y. J.; CHO, H. J.; YU, S. N.; KIM, K. Y.; CHANG, J. H.; AHN, S.C. **Oncology Repeports**, v. 20, 785p. 2008.
- LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, vol. 92, n. 2, p. 180-185, 1987.

MAMUN, A.; M. H. KHATUN. Evaluation of CNS depressant and analgesic activities of the methanol extract of *Piper longum* linn. Leaves. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, vol. 2, n. 11, p. 2874-2879, 2011.

MARQUES, T. H. C.; MARQUES, M. L. B. G. C. B.; LIMA, D. S.; SIQUEIRA, H. D. S.; NETO, J. D. N.; BRANCO, M. S. B. G. C.; SOUZA, A. A.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Evaluation of the neuropharmacological properties of nerol in mice. **World Journal of Neuroscience**, vol. 3, n. 1, p. 32-38, 2013.

MARTIN, J. L.; SAINZ-PARDO, M.; FURUKAWA, T. A.; MARTIN-SANCHEZ, E.; SEOANE, S.; GALAN, C. Review: benzodiazepines in generalized anxiety disorder: heterogeneity of outcomes based on a systematic review and meta-analysis of clinical trials. **Journal Psychopharmacol**, v. 21, n. 7, p.774-782, 2007.

MOCAIBER, I.; OLIVEIRA, L.; PEREIRA, M. G.; MACHADO-PINHEIRO, W.; VENTURA, P. R.; FIGUEIRA, I. V.; VOLCHAN, E. Neurobiologia da regulação emocional: implicações para a terapia cognitivo-comportamental. **Psicologia em Estudo**, Maringá, vol. 13, n. 3, p. 531-538. 2008.

MOODY, T. W.; MERALI, Z., CRAWLEY, J. N. The effects of anxiolytics and other agents on rat grooming behavior. **Annals of the New York Academy of Sciences**, vol. 525, n. 1 p. 281-290, 1988.

NICOLINI, H.; BAKISH, D.; DUENAS, H.; SPANN, M.; ERICKSON, J.; HALLBERG, C.; BALL, S.; SAGMAN, D.; RUSSELL, M. Improvement of psychic and somatic symptoms in adult patients with generalized anxiety disorder: examination from a duloxetine, venlafaxine extended-release and placebo controlled trial. **Psychological Medicine**, vol. 39, n. 2, p. 267-276, 2009.

OCHSNER, K. N., BUNGE, S. A., GROSS, J. J.; GABRIELI, J. D. Rethinking feelings: An FMRI study of the cognitive regulation of emotion. **Journal of Cognitive Neuroscience**, vol. 14, n. 8, p.1215-1229, 2002.

OLONISAKIN, A.; OLADIMEJI, M. O.; LAJIDE, L. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Steam Distilled Oil of Ashanti Pepper (*Piper guineense*) Fruits (Berries). **Journal of Applied Sciences**, vol. 6, n. 11, p. 2520-2522, 2006.

PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; RATES, S. M. K.; VON POSER, G. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n.1, p.140-149, 2009.

SOUSA, F. C. F.; MELO, C. T. V.; CITÓ, M. C. O.; FÉLIX, F. H. C.; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; FILHO, J. M. B. F.; VIANA, G. S. B. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 4, p. 642-654, 2008.

TREIT, D.; MENARD, J.; ROYAN, C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.44, n. 2, p.463 - 469, 1993.