

Atividade antidepressiva do extrato etanólico da *Kielmeyera Rubriflora* Cambes (Pau Santo) em camundongos

Actividad antidepressiva del extracto etanolico de la *Kielmeyera Rubriflora* Cambes (Pau Santo) en ratones

Antidepressant activity of *Kielmeyera Rubriflora* Cambes (Pau Santo) ethanolic extract on mice

Amine Becheleni Pimenta,^I Sérgio Ricardo Stuckert Seixas,^I Luiz Elídio Gregório,^{II} Cynthia Fernandes Ferreira Santos^I

^I Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e do Mucuri, Diamantina. Brasil.

^{II} Universidade Federal de São Paulo, Diadema. Brasil.

RESUMO

Introdução: a *Kielmeyera rubriflora* Cambes, pertencente à família *Clusiaceae*, é uma planta nativa do Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais no Brasil, onde é utilizada na medicina caseira. É conhecida como Pau Santo, Rosa do Campo, Flor de Santa Rita ou Rosa do Cerrado. Entretanto, até o momento não existem dados disponíveis na literatura no que diz respeito a estudos farmacológicos desta espécie. A *Kielmeyera coriácea* também é uma planta nativa da região e já existem estudos revelando sua ação antidepressiva.

Objetivo: avaliar a ação antidepressiva do extrato etanólico das partes aéreas da *K. rubriflora* em camundongos.

Método: o extrato etanólico das partes aéreas foi administrado por v.o. nas doses de 100 mg/kg, 250 mg/kg e 500 mg/kg em camundongos albinos, suíços, machos, com idade entre 9 e 13 semanas, com peso entre 29 e 43 g. Para a investigação dos efeitos antidepressivos foram utilizados os testes de triagem farmacológica comportamental (administração aguda), nado forçado (administração crônica) e suspensão da cauda (administração crônica).

Resultados: na triagem farmacológica comportamental, foram detectados efeitos de depressão do sistema nervoso central pela dose de 100 mg/kg e de estímulo do sistema nervoso central nas doses de 250 e 500 mg/kg. No teste da suspensão da cauda houve diminuição dose-dependente, porém não significativa do tempo de imobilidade. No teste de nado forçado houve diminuição significativa do tempo de imobilidade em todas as doses investigadas sugerindo atividade antidepressiva, principalmente na dose de 100 mg/kg.

Conclusão: os dados encontrados sugerem ação antidepressiva do extrato etanólico das partes aéreas da *K. rubriflora*.

Palavras-chave: *Kielmeyera rubriflora*; antidepressivo; suspensão da cauda; nado forçado; SNC; plantas do cerrado.

RESUMEN

Introducción: la *Kielmeyera rubriflora* Cambess, perteneciente a la familia *Clusiaceae*, es una planta nativa del Valle de Jequitinhonha, en Minas Gerais en Brasil, donde se utiliza como Pau Santo, Rosa do Campo, Flor de Santa Rita o Rosa do Cerrado. Sin embargo, hasta ahora no hay datos disponibles en la literatura con respecto a los estudios farmacológicos de esta especie. La *Kielmeyera coriacea* es también una planta nativa de la región y ya hay estudios que revelan su acción antidepresiva.

Objetivo: evaluar la acción antidepresiva del extracto crudo de las partes aéreas de la *K. rubriflora* en ratones.

Método: el extracto crudo de las partes aéreas se administró v.o. en dosis de 100 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg en ratones albinos, suizos, machos, con edades comprendidas entre 9 y 13 semanas, con un peso entre 29 y 43 g. Para la investigación de los efectos antidepresivos se utilizaron pruebas de screening farmacológico de comportamiento (administración aguda), nado forzado (administración crónica) y suspensión de la cola (administración crónica).

Resultados: en el screening farmacológico de comportamiento se detectaron efectos de depresión del sistema nervoso central por la dosis de 100 mg/kg y estimulación del sistema nervoso central con las dosis de 250 y 500 mg/kg. En el ensayo de suspensión de cola hubo una disminución dependiente de la dosis, pero no significativa en el tiempo de inmovilidad. En la prueba de nado forzado hubo una disminución significativa en el tiempo de inmovilidad en todas las dosis investigadas, sugiriendo actividad antidepresiva, en particular a una dosis de 100 mg/kg.

Conclusión: los resultados sugieren la acción antidepresiva del extracto crudo de las partes aéreas de la *K. rubriflora*.

Palabras clave: *Kielmeyera rubriflora*; antidepressivo; suspensión por la cola; nado forzado; CNS; plantas del cerrado.

ABSTRACT

Introduction: The *Kielmeyera rubriflora* Cambess, belonging to the *Clusiaceae* family, is a native to the Vale do Jequitinhonha in Minas Gerais in Brazil, where it is used in folk medicine. It is popularly known as Pau Santo, Rosa do Campo, Flor de Santa Rita and Rosa do Cerrado. However, so far there are no data available in the literature on pharmacological studies regarding this species. The *Kielmeyera coriacea* is also a native plant in the region and there are already studies revealing its antidepressant action.

Objective: To evaluate the antidepressant action of the crude extract from the aerial parts of *K. rubriflora* in mice.

Method: The crude extract from the aerial parts was administered v.o. at doses of 100 mg/kg, 250 mg/kg and 500 mg/kg in albino Swiss, male mice, between 9 and 13 weeks of age, weighing between 29 and 43 g. In order to the investigation of antidepressant effects, the behavioral pharmacological screening (acute administration), forced swimming (chronic administration) and tail suspension (chronic administration) tests were performed.

Results: In the behavioral pharmacological screening were detected central nervous system depression effects with the dose of 100mg/kg and central nervous system stimulation with the doses of 250 and 500 mg/kg. In the tail suspension test, a dose-dependent, but not significant, decrease in the immobility time was observed. In the forced swimming test a significantly lower immobility time was observed at all doses investigated, suggesting an antidepressant activity, especially at a dose of 100 mg/kg.

Conclusion: The results suggests an antidepressant action of the crude extract from the aerial parts of *K. rubriflora*.

Keywords: *Kielmeyera rubriflora*; antidepressant; tail suspension; forced swimming; CNS; cerrado plants.

INTRODUÇÃO

A depressão é uma síndrome clínica, que em geral está associada à ansiedade, que diminui a qualidade de vida do paciente. Apresenta graus de sofrimento que vão de tristeza a pensamentos de morte.^{1,2} Entre outras hipóteses, a mais aceita para a gênese biológica da depressão é de que haja deficiência de aminas biogênicas na fenda sináptica, principalmente serotonina, e noradrenalina.³⁻⁵

O desenvolvimento de psicofármacos de baixo custo é uma demanda mundial, pois, estima-se que 13 % da população mundial acometida por enfermidades portem desordens neuropsiquiátricas.⁶ O estudo de plantas da região contribui para a criação de Farmácias Vivas (instituídas pelo Ministério da Saúde no Brasil) melhorando o acesso da população a medicamentos.⁷

A *K. rubriflora* é uma planta do cerrado, onde é considerada medicinal, distribuída em vários estados do Brasil. Atinge até 1,5 m de altura, cresce em lugares rochosos, geralmente a partir de 500 m acima do nível do mar. É popularmente conhecida como Pau Santo, Rosa do Campo, Flor de Santa Rita ou Rosa do Cerrado.⁸⁻¹¹

O primeiro estudo a respeito da *K. rubriflora* data de 1971, as cascas e o lenho desta espécie foram coletados na região do Serro em Minas Gerais. Da extração das cascas por benzeno foi isolada a 1,7-dimetoxi 2,3,8-trihidroxixantona. Esta xantona ainda não havia sido encontrada nas outras espécies do gênero *Kielmeyera*. Na extração do lenho por benzeno foram isolados os seguintes compostos xantônicos: 2-hidroxixantona; 2,4-dimetoxi-3-hidroxixantona; 2,3-dimetoxi-4-hidroxixantona; 4-hidroxi-2,3-etilenodioxixantona; 4-metoxi-2,3-metilenodioxixantona, Kielcorina. Estas xantonas encontradas no lenho já haviam sido isoladas em outras *Kielmeyeras*.¹²

O composto 4-hidroxi-2,3-dimetoxixantona foi isolado da *Kielmeyera coriacea*, depois disto um composto com os mesmos substituintes, porém em posições diferentes, o 2-hidroxi-3,4-dimetoxixantona foi isolado das espécies *Kielmeyera speciosa* St. e *K. rubriflora*. Outro composto inédito encontrado na *K. rubriflora* é o 2,3,8-trihidroxi-1,7-dimetoxixantona.^{13,14} Em um estudo mais recente foi verificada ainda a presença de flavonoides, taninos e triterpenos.¹¹

As plantas do gênero *Kielmeyera* têm demonstrado uma variedade de utilidades terapêuticas como antibiótico, antioxidante e anticancerígena.¹⁵⁻¹⁷ Entretanto seu melhor campo de ação parece ser sobre o sistema nervoso central (SNC). As ações dos extratos destas plantas costumam ser atribuídas à presença de xantonas, que são metabólitos secundários conhecidos por possuírem atividade inibidora da monoaminoxidase (MAO).¹⁸ Inclusive, 2-hidroxixantona, presente na *K. rubriflora*, exibiu atividade inibidora da MAO, com preferência para a MAO-A.¹⁹

Xantonas presentes em outras espécies também exibiram ação sobre o SNC: gentiakochianina e gentiacauleina exibiram atividade inibidora da MAO sugerindo que sejam as responsáveis pelo efeito antidepressivo no teste de nado forçado. A mangiferina produziu melhora de memória em camundongos e prolongamento do tempo de neurodegeneração.^{20,21}

O extrato etanólico da *K. coriacea* administrado por 45 dias demonstrou efeito antidepressivo no modelo de nado forçado. A fração diclorometano da extração alcoólica da *K. coriacea* administrada por 45 dias também mostrou o mesmo efeito. Sua administração por 21 dias produziu efeito ansiolítico quando estudada no modelo de labirinto em forma de T. No material estudado foram isolados triterpenos xantonas, dentre elas a Kielcorina que também está presente na *K. rubriflora* e em mais 3 espécies de *Kielmeyera*.²²⁻²⁶

A 1,3,7-trihidroxi-2-(3-metilbut-2-enil)-xantona que foi isolada da *K. coriacea*, mostrou efeito antidepressivo no teste de nado forçado e foi caracterizada como antagonista dos receptores 5-HT_{1A}.²⁷

Até o momento, na literatura não se encontram estudos farmacológicos a respeito da *K. rubriflora*. Entretanto a presença de xantonas e os resultados encontrados com a *K. coriacea*, levantam uma expectativa de ação antidepressiva na *K. rubriflora*.

O Objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos antidepressivos do extrato etanólico das partes aéreas da *K. rubriflora* sobre o SNC de camundongos através dos testes triagem farmacológica comportamental, nado forçado e suspensão da cauda.

MÉTODOS

Material botânico

Os espécimes de *K. rubriflora* Cambess foram coletados em Fevereiro de 2013 no Parque Estadual do Biribiri na cidade de Diamantina no estado de Minas Gerais. Uma excisada da planta está arquivada no Herbário Jeanine Felfili da Universidade Federal dos Vales Do Jequitinhonha e do Mucuri (UFVJM) sob o número de coletor LEG 49.

Preparo do extrato

Após coleta e identificação, as partes aéreas da planta foram desidratadas em estufa de ar circulante a cerca de 40 °C por mais ou menos uma semana e pulverizadas em moinho de facas.

Foi preparado um extrato etanólico por maceração, usando etanol 96 %, 1:10 p/v. O macerado foi filtrado e concentrado em rota evaporador a temperatura de 40 °C até mais ou menos 30 mL. O restante do resíduo alcoólico evaporou a temperatura ambiente. Após secagem completa o extrato foi acondicionado em dessecador a vácuo.²⁸ A proporção de extrato seco obtido foi de 1 g para cada 100 g de planta seca e pulverizada.

Animais

Foram utilizados camundongos suíços (*Mus musculus*), albinos, machos com idade de entre 9 e 13 semanas e pesando entre 29 g e 43 g.

Os animais foram cedidos por gentileza pelo biotério do Instituto René Rachou (Fundação Oswaldo Cruz - MG). Após transporte os animais foram aclimatados no biotério do Núcleo de Experimentação Animal (NEA) na UFVJM por no mínimo 10 dias antes dos experimentos.

Os animais foram mantidos em grupos de 10 a 15 animais em caixas de polipropileno e forradas com maravalha. Receberam água filtrada e ração Nuvilab ® a vontade, exceto nos dias dos experimentos pelo tempo exigido pelo protocolo. Cada animal foi utilizado uma única vês.

As caixas foram mantidas em gabinetes climatizados em temperatura constante de 23 °C ± 1 °C e umidade de 29 % com circulação de ar média e ciclo claro/escuro de 12 h (fase clara das 07:00 hs /às 19:00 hs), na sala dormitório com exaustor de ar, no biotério do NEA do departamento de Fisioterapia da UFVJM.

A realização dos experimentos foi autorizada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (CEUA-UFVJM) sob o parecer 047/13.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para a realização de cada experimento os animais foram distribuídos em 5 grupos experimentais com 10 animais escolhidos aleatoriamente que receberam um dos tratamentos descritos abaixo:

- Grupo I: Água destilada como controle negativo.
- Grupo II: Fluoxetina 20 mg/kg como controle positivo (FLX).
- Grupo III: Extrato de *Kielmeyera rubriflora* 100 mg/kg (EKR-100).
- Grupo IV: Extrato de *Kielmeyera rubriflora* 250 mg/kg (EKR-250).
- Grupo V: Extrato de *Kielmeyera rubriflora* 500 mg/kg (EKR-500).

Antes das diluições o extrato foi triturado. A fluoxetina e o extrato foram diluídos cada um em água destilada, logo antes de cada teste, na proporção a que cada animal recebesse 10 mL/kg e foram todos agitadas por 10 s no vórtex imediatamente antes de cada administração. Todas as administrações foram realizadas por gavagem.

Os experimentos foram todos realizados na sala multiusuário do biotério do Núcleo de Experimentação Animal sempre à mesma hora do dia (fase clara do ciclo). Nos dias dos testes, os animais utilizados foram colocados nesta sala em suas próprias caixas dormitório com no mínimo uma hora de antecedência às administrações dos tratamentos. Os animais foram, então, pesados e marcados aproximadamente 30 min antes do início de cada bateria de experimento.

A triagem farmacológica comportamental foi observada pela pesquisadora. Os demais testes foram filmados com uma câmera acoplada a um tripé e os comportamentos foram avaliados posteriormente. Durante a execução dos testes não houve movimentação de pessoas na sala de experimentos. Os comportamentos foram avaliados. Tanto a posição dos aparelhos como a da câmera não variou durante as experimentações.

Triagem farmacológica comportamental

O primeiro teste realizado foi a triagem farmacológica comportamental que é um teste geral investigativo de possíveis ações da droga sobre o SNC e efeitos autonômicos. O resultado deste teste direciona o estudo para outros testes mais específicos como os que investigam atividade antidepressiva, ansiolítica, neuroléptica, anticonvulsivante e analgésica.²⁹

Neste teste os animais de cada grupo foram avaliados todos juntos e os tratamentos foram administrados de forma aguda. Os animais de cada grupo receberam de forma aguda um dos tratamentos: água destilada, EKR-100, EKR-250, EKR-500 e colocados em duas gaiolas de arame nas dimensões de 26 cm por 14,5 cm e 17 cm de altura.

Estas gaiolas foram dispostas lado a lado em uma bancada de modo a facilitar a observação e sob cada uma foi colocada uma folha de papel branco. A cada intervalo de tempo foi trocado o papel sob as bandejas. Os comportamentos foram observados aos 30, 60, 120, 180 e 240 min.

Os efeitos indicativos de estímulo do SNC avaliados foram: agressividade; ambulação aumentada; andar em círculo; autolimpeza; bocejo; contorções abdominais; convulsões; escalar; estereotipia; irritabilidade; levantar; movimentação intensa das vibrissas; pedalar; sacudir a cabeça; saltos; tremores; vocalização. Os efeitos indicativos de depressão do SNC avaliados foram: abdução das patas do trem posterior; analgesia/antinocicepção; anestesia; ataxia ou incordenação motora; cauda de Straub; hipnose; perda do reflexo auricular; perda do reflexo corneal; ptose palpebral; reflexo de endireitamento: resposta ao toque diminuída; sedação. Os sinais indicativos de efeitos autonômicos avaliados foram: cianose; constipação; defecação; diarreia; força para agarrar; lacrimejamento; micção; piloereção; respiração; salivação; tônus muscular. Também foi avaliado se houve alguma morte no período de 72 h.

Testes antidepressivos de tratamento crônico

Os animais receberam aleatoriamente um dos tratamentos: água destilada, EKR-100, EKR-250, EKR-500 e fluoxetina 20 mg/kg por 14 dias. No último dia de tratamento as observações ocorreram 1 hora após as administrações e os dados coletados foram expressos em segundos.

Teste do nado forçado

Um dia antes do teste os animais foram adaptados para aprender sobre o caráter inescapável do ambiente. Para isso, os animais foram colocados em grupos de 5 juntos por 15 min em um béquer de 4 L, com água a 25 ± 1 °C até 17 cm do fundo. A cauda dos camundongos não tocava o fundo do béquer.^{29,31}

Nos dias dos experimentos cada animal foi colocado de forma individual no centro do béquer, e nadou por 6 min. Os dois primeiros minutos do teste foram desprezados e cada animal foi observado, então, durante os últimos 4 min. Os tempos em que o animal realizou movimentos mínimos para boiar foram somados e esta soma foi considerada o tempo total de imobilidade. Foi considerado que o animal realizou movimentos mínimos quando: seu dorso não se movimentou sobre a água; sua cauda permaneceu imóvel; o animal não tentou escalar as paredes do béquer e não se debateu com as patas, ou seja quando realizou movimentos mínimos para boiar.²⁹⁻³²

Teste da suspensão da cauda

Cada animal foi avaliado de forma individual. O camundongo foi suspenso pela cauda e preso em uma superfície a 30 cm da bancada com uma tira de esparadrapo a 1 cm do final da cauda. Cada animal foi suspenso por 6 min, onde os últimos 4 min foram avaliados. Os tempos em que o animal ficou imóvel foram somados e esta soma foi considerada o tempo total de imobilidade.²⁹⁻³¹

Análise estatística

Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão da média (EPM). Os dados obtidos foram analisados pelos testes estatísticos de Análise de Variância -ANOVA- utilizando Modelos Lineares Generalizados por Diferença Mínima Significativa com o modelo Gama com Link de Log.

Foram considerados intervalos de confiança de 95 % e as diferenças foram consideradas significantes pelos testes estatísticos quando $p \leq 0,05$.

O tratamento dos dados obtidos e análises foram realizados com o pacote estatístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 20.0.

RESULTADOS

Triagem farmacológica comportamental

Como pode ser observado na [tabela 1](#), nas doses testadas ocorreu uma tendência do extrato em exacerbar os efeitos excitantes centrais. A ambulação foi aumentada nos intervalos de 30 e 60 min nos animais que receberam a dose de 250 mg/kg e nos intervalos de 30, 60 e 120 min nos animais que receberam a dose de 500 mg/kg.

Tabela 1. Alterações comportamentais observadas em camundongos decorrentes da administração oral do extrato de *Kielmeyera rubriflora*. Foram observados os seguintes parâmetros: Agressividade, ambulação aumentada, andar em círculo, autolimpeza, bocejo, contorções abdominais, convulsões, escalar, estereotipia, irritabilidade, levantar, movimentação intensa das vibrissas, pedalar, sacudir a cabeça, saltos, tremores, vocalização, abdução das patas do trem posterior, ambulação diminuída, analgesia/ antinocicepção, anestesia, ataxia ou incordenação motora, catatonía, cauda de Straub, hipnose, perda do reflexo auricular, perda do reflexo corneal

Dose (mg/Kg, v.o)	Tempo (min.)	Alterações Observadas
100	30	-
	60	Escalar (-)
	120	Escalar (-)
	180	Escalar (-)
	240	Escalar (-), Levantar (-), Auto limpeza (+)
250	30	Ambulação aumentada (+), Auto limpeza (++) , Escalar (++) , Levantar (-)
	60	Ambulação aumentada (+), Auto limpeza (++) , Escalar (++)
	120	Andar em círculo (+), Auto limpeza (++) , Saltos (+)
	180	Andar em círculo (+), Auto limpeza (++) ,
	240	Andar em círculo (+), Auto limpeza (+), Levantar (+)
500	30	Ambulação aumentada (+)
	60	Ambulação aumentada (+), Escalar (-), Diarréia (+)
	120	Ambulação aumentada (+), Escalar (-)
	180	-
	240	Auto limpeza (+), Escalar (+), Levantar (+), Vocalização (+)

(-) efeito diminuído, (+) efeito presente, (++) efeito intenso, n=10.
 Dados expressos em números brutos para cada grupo em cada intervalo de tempo, n=10.

O comportamento de andar em círculo apareceu apenas com a administração da dose de 250 mg/kg em dos, tres e cuatro h após a administração do extrato. Houve acentuado aumento do comportamento de auto-limpeza com a dose de 250 mg/kg nos intervalos até a terceira hora de leitura. O comportamento de escalar foi diminuído nas doses de 100 mg/kg e 500 mg/kg e aumentado na dose de 250 mg/kg.

Na administração de 250 mg/kg houve saltos na observação de 2 h e na de 500 mg/kg houve vocalização na observação de 4 h.

O número de bolos fecais foi aumentado com a administração de todas as doses (tabela 2). Em relação ao grupo água, o total de bolos fecais acumulados foi de 303,85 % para o grupo EKR-100, 265,38 % para o grupo EKR-250 e de 365,38 % para o grupo EKR-500. Na dose de 500 mg/kg houve diarreia.

Tabela 2. Efeito do extrato de *K. rubriflora* nas doses de 100, 250 e 500 mg/Kg (EKR-100, EKR-250, EKR-500) v.o. sobre a defecação no teste da triagem farmacológica comportamental em camundongos: número de bolos fecais observados nos intervalos de 30, 60, 120, 180 e 240 minutos

Tratamento	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.	240 min.	Total acumulado
Água	07	04	10	3	2	26
EKR-100	23	22	05	20	09	79
EKR-250	20	04	22	13	10	69
EKR-500	23	28	09	16	19	95

Os valores são os dados brutos de cada grupo com n=10.

Na triagem farmacológica comportamental não houve sinais de catatonia, ptose palpebral, analgesia e perda de reflexo.

Teste da suspensão da cauda

No teste da suspensão da cauda não houve alteração do tempo de imobilidade nos grupos de animais que receberam os extratos, entretanto, o grupo que recebeu fluoxetina 20 mg/kg apresentou um tempo de imobilidade significativamente menor que o grupo que recebeu água (tabela 3).

Tabela 3. Efeito do extrato de *K. rubriflora* nas doses de 100, 250 e 500 mg/Kg (EKR-100, EKR-250, EKR-500) e fluoxetina 20mg/Kg (FLX) v.o. sobre o tempo de imobilidade no teste da Suspensão da cauda

Grupo/ dose mg/Kg	Tempo imobilidade
Água 10 ML	97,00 ± 15,78
FLX 20	27,80 ± 7,06**
EKR-100	86,80 ± 11,48
EKR-250	80,60 ± 11,84
EKR-500	77,90 ± 15,66

Os valores estão expressos como média ± e.p.m. (n = 10).

**p < 0,01.

Teste do Nado Forçado

Neste teste o tempo de imobilidade foi diminuído de forma significativa em todos os grupos de tratamento quando comparados ao grupo tratado com água conforme demonstrado na [tabela 4](#).

Tabela 4. Efeito do extrato de *Kielmeyera rubriflora* nas doses de 100, 250 e 500 mg/Kg (EKR-100, EKR-250, EKR-500) e fluoxetina 20mg/Kg (FLX 20) v.o. sobre o tempo de imobilidade no teste do Nado forçado

Grupo/ dose mg/Kg	Tempo imobilidade
Água 10 ML	156,60 ± 12,07
FLX 20	46,50 ± 13,65**
EKR-100	30,50 ± 9,47****
EKR-250	82,10 ± 18,94*
EKR-500	75,10 ± 16,67*

Os valores estão expressos como média ± e.p.m. (n = 10).

*P ≤ 0,05, **P ≤ 0,01, ****P ≤ 0,001.

DISCUSSÃO

No presente estudo foi investigada a ação do extrato alcoólico das partes aéreas da *K. rubriflora* sobre o SNC de camundongos. O trabalho se iniciou pela triagem geral de sinais indicativos de ação sobre o SNC utilizando-se do teste da triagem farmacológica comportamental. Em seguida, foi investigada a ação antidepressiva com os testes de nado forçado e suspensão da cauda.

De forma geral, a triagem farmacológica comportamental apresentou comportamentos indicativos de ação do extrato sobre o SNC. Os resultados dos testes aplicados sugerem efeitos estimulantes do SNC.

Uma das reações avaliadas pela triagem é a catatonia, esta é caracterizada por contração muscular decorrente de uma ação dopaminérgica da droga. O animal fica parado por alguns minutos na mesma posição quando é colocado com as patas dianteiras sobre o bastão de vidro e as patas traseiras sobre a bancada. Outro sinal avaliado é a ptose palpebral ou fechamento espontâneo das pálpebras. Ambos são efeitos colaterais dos neurolépticos decorrentes da diminuição da transmissão dopaminérgica.^{32,33} Na triagem inicial não houve sinais de catatonia e tampouco de ptose palpebral, portanto foi descartada a hipótese de ação neuroléptica típica, entretanto não se descarta a possibilidade de uma ação neuroléptica atípica.

Não houve alteração de reflexo de dor quando os animais tiveram suas caudas apertadas com uma pinça, portanto foi descartada a atividade analgésica/antinociceptiva.³⁴

As três doses usadas na triagem farmacológica apresentaram comportamentos indicativos de efeito sobre o SNC e nenhuma das doses estudadas provocou a morte de algum animal ou sinais de toxicidade no prazo de 72 h após a administração dos tratamentos, logo nos testes que se seguiram foram aplicadas as doses estudadas na triagem inicial.

Os testes de nado forçado e suspensão da cauda são os modelos mais utilizados para a pesquisa de antidepressivos. Em ambos os testes a imobilidade corresponde a um estado depressivo em resposta à situação inescapável em que o animal é colocado. De modo geral drogas de ação antidepressiva são capazes de prolongar o tempo em que o animal apresenta comportamento de fuga que é inversamente proporcional ao tempo de imobilidade.³⁰

No teste de nado forçado todas as doses do extrato, apresentaram ação antidepressiva demonstrada pela diminuição significativa do tempo de imobilidade dos animais. O EKR-100 apresentou o melhor resultado, pois foi capaz de reduzir o tempo de imobilidade dos animais em 80 %. A fluoxetina, usada como controle positivo, reduziu a imobilidade em 70 % e as demais doses do extrato em cerca de 50 %. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo do extrato etanólico de *Curcuma longa* L. onde o tempo de imobilidade no teste de nado forçado apresentou uma curva em forma de U invertida. A concentração cerebral de 5-HT acompanhou a redução do tempo de imobilidade apresentando a mesma curva e demonstrando a correlação entre este neurotransmissor e a atividade antidepressiva.³⁵ O mesmo ocorreu no estudo da *Glycyrrhiza glabra*, o efeito antidepressivo (redução significativa do tempo de imobilidade) apareceu na dose de 150 mg/kg, sendo que nas doses de 75 e de 300 mg/kg não houve efeito.³⁶ Portanto, os resultados encontrados no presente trabalho sugerem uma propriedade antidepressiva no material estudado.

Além do efeito antidepressivo haver sido bastante evidenciado no teste do nado forçado, o teste da suspensão da cauda que usa os mesmos princípios aponta uma tendência à redução do tempo de imobilidade nos grupos tratados com extrato, entretanto esta redução não foi significativa. A curva bifásica, curva hormética ou curva em forma de U invertido que de forma geral aparece no teste de nado forçado, não aparece de forma geral no teste de suspensão da cauda, a exemplo da imipramina que apresenta padrão linear com a suspensão da cauda e curva em forma de u invertido com o nado forçado.³⁷ No presente estudo ambos os testes mostraram os padrões indicados, apesar dos valores não atingirem a significância estabelecida no teste de suspensão da cauda. Portanto, os resultados estão em conformidade com os estudos atuais desta natureza.

O teste de suspensão da cauda não atingiu a mesma significância do teste de nado forçado, o que pode ser explicado pelo tempo de administração, pois, um estudo dos efeitos antidepressivos do extrato aquoso da *Curcuma longa* apresentou resultado positivo no teste de nado forçado a partir do 7º dia de administração, enquanto o mesmo resultado no teste da suspensão da cauda só apareceu aos 14 dias de administração.³⁸

Considerando os dados experimentais obtidos na presente investigação, conclui-se que a administração crônica, por via oral, do extrato etanólico das partes aéreas de *K. rubriflora*, nas doses investigadas em camundongos demonstrou ação antidepressiva.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). Pelo apoio técnico para produção do extrato, ao Instituto René Rachou (Fiocruz-MG) pela doação dos animais, a Universidade Federal dos Vales Do Jequitinhonha e do Mucuri pelo suporte técnico, material e disponibilização de espaço para realização dos experimentos.

Apoio Financeiro

Instituto Estadual de Florestas de Minas Gerais (FAPEMIG).

Declaración de Conflicto de Intereses

Não houve conflito de interesses na produção deste trabalho, nem tampouco há conflito de interesses na publicação deste artigo.

REFERÊNCIAS

- 1- Lenze EJ, Watherell JL. A lifespan view of anxiety disorders. *Dialogues Clin Neurosci.* 2011;13:381-99.
- 2- Silva Júnior CA. Epidemiologia dos subtipos de depressão: análise de classes latentes dos sintomas depressivos em uma amostra populacional da região metropolitana de São Paulo. São Paulo. Tese [Doutorado em Psiquiatria]. Universidade de São Paulo; 2012.
- 3- Massart TR, Mongeau UR, Lanfumey L. Beyond the monoaminergic hypothesis: neuroplasticity and epigenetic changes in a transgenic mouse model of depression. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2012 [citado 29 Oct de 2014];367:2485-94. < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3405682/>
- 4- Zhang H, Liu B, Wu J, Xu C, Tao J, Duan X, et al. Icariin inhibits corticosterone-induced apoptosis in hypothalamic neurons via the PI3-K/Akt signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2012;6:967-72.
- 5- Bentley SM, Pagalilauan GL, Simpson SA. Major Depression. *Med Clin North Am.* 2014;98:981-1005.
- 6- World Health Organization. Mental health atlas 2011. Geneva: World Health Organization; 2011.
- 7- Brasil. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Práticas Integrativas e Complementares. Plantas Medicinais e Fitoterapia na Atenção Básica. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Cadernos de Atenção Básica, n 31. Brasília: Ministério da Saúde; 2012.

- 8- Killen TJ, Garcia EE, Beck SG. Guía de Arboles de Bolivia. La Paz: Herbario Nacional de Bolivia. Missouri Botanical Garden; 1993.
- 9- Forzza RC, Baumgratz JFA, Bicudo JFA, Carvalho Júnior AA, Costa A, Costa DP, et al. Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro; 2010.
- 10- Wood JRI, Mamani F, Pozo P, Soto D, Wood JRI. Guía Darwin de las plantas de los cerrados de la Chiquitania. Santa Cruz: Museo de Historia Natural Noel Kempff Mercado; 2011.
- 11- Evangelista NLS, Gonçalves MVFA, Fernandes DN, Marinho BM, Gregório LE. Fitoquímica preliminar da espécie vegetal *Kielmeyera rubriflora* Camb. (Clusiaceae). [CD ROM] In: II Semana de Integração (Sintegra); Diamantina (MG), Campus JK: UFVJM; 2013. p. 485.
- 12- Gottlieb OR, Lins Mesquita AA, Nagem TJ. *Guttiferae*: Xanthonas from *Kielmeyera rubriflora*. Phytochemical Reports. 1971;10: 2253-5.
- 13- Nagem TJ. Desmetilações seletivas de metoxixantonas por piperidina aquosa. (RESUMO). Tese [Doutorado em Química]. Belo Horizonte: UFMG. 1973 [citado 27 Ago de 2014]. In EMBRAPA: <http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br>
- 14- Gottlieb OR, Nagem TJ. 2-hydroxi-3,4-dimethoxyxanthone from *Kielmeyera* species. Rev Latinam Quim. 1977;8:137-8.
- 15- Mesquita LM, Araújo RM, Bezerra DP, Filho RB, Paula JE, Silveira ER, et al. Cytotoxicity of tocotrienols from *Kielmeyera coriacea* against cancer cell lines. Bioorg Med Chem. 2011;19:623-30.
- 16- Toledo CEM, Britta EA, Ceole LF, Silva ER, Mello JCP, Dias Filho BP, et al. Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of Brazilian cerrado, using cachaça as extractor liquid. J Ethnopharmacol. 2011;133:420-5.
- 17- Coqueiro A, Regasini LO, Skrzek SCG, Queiroz MMF, Silva DHS, Bolzani WS, et al. Free Radical Activity of *Kielmeyera variabilis* (Clusiaceae). Molecules. 2013;18:2376-85.
- 18- Mathew B, Suresh J, Mathew GE, Parasuraman R, Abdulla N. Plant Secondary Metabolites - Potent Inhibitors of Monoamine Oxidase Isoforms. Cent Nerv Syst Agents Med Chem. 2014;14:28-33.
- 19- Fernandes EGRB. Síntese e elucidação estrutural de xantonas, xantolignóides e determinação da atividade biológica. Universidade do Porto. Dissertação [Mestrado em Química Farmacêutica]. Porto; 1996.
- 20- Tomić M, Tovilović G, Butorović B, Krstić D, Janković T, Aljančić I, et al. Neuropharmacological evaluation of diethylether extract and xanthonas of *Gentiana kochiana*. Pharmacol Biochem Behav. 2005;81:535-42.
- 21- Biradar SM, Joshi H, Cheda TK. Neuropharmacological effect of Mangiferin on brain cholinesterase and brain biogenic amines in the management of Alzheimer's disease. Eur J Pharmacol. 2012;683:140-7.

- 22- Castelão JF, Gottlieb OR, Lima RA, Mesquita AL, Gottlieb HE, Wenkert E, et al. Xanthonolignoids from *Kielmeyera* and *Caraipa* species C NMR spectroscopy of xanthenes. *Phytochemistry*. 1977;16:735-40.
- 23- Anais do XI Encontro Anual de Iniciação Científica. Maringá, Brasil: Universidade Estadual de Maringá/ Pró- Reitoria de extensão; 2002.
- 24- Martins J, Otobone FJ, Sela VR, Obici S, Trombelli MA, Garcia Cortez DA, et al. Behavioral effects of *Kielmeyera coriacea* extract in rats. *Indian J Pharmacol*. 2006;38:427-8.
- 25- Goulart YCF, Martins JVC, Santos AR, Moreira YL, Calixto JB, Cortez DAG, et al. Involvement of Serotonin in the Antidepressant-like Effect of Extract from *Kielmeyera coriacea* Stems. *Pharm Biol*. 2007;45(3):169-75.
- 26- Biersdorf C, Cortez DAG, Audi EA. Assessment of anxiolytic and panicolytic effects of dichloromethane fraction from stems of *Kielmeyera coriacea*. *Phytomedicine*. 2012;19:374-7.
- 27- Sela VR, Hattanda I, Albrecht CM, De Almeida CB, Obici S, Cortez DA, et al. Effect of xanthone from *Kielmeyera coriacea* stems on serotonergic neurons of the median raphe nucleus. *Phytomedicine*. 2010;17:274-8.
- 28- Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa; 2010.
- 29- Almeida RN. Psicofarmacologia: Fundamentos práticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A; 2006.
- 30- Buccafusco JJ. Methods of Behavior analysis in neuroscience. 2 ed. Boca Raton, London, New York: Taylor & Francis Group; 2009.
- 31- Sociedade Brasileira de Plantas Mediciniais. Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais. Porto Alegre; 2003.
- 32- Pinto BAS. Estudo psicofarmacológico do extrato bruto das cascas de *Himantus drasticus* MART. São Luís. Dissertação [Mestrado em Saúde e Ambiente]. Universidade Federal do Maranhão; 2011.
- 33- Chatterjee M, Singh S, Kumari R, Verma AK, Palit G. Evaluation of the antipsychotic potential of *Panax quinquefolium* in ketamine induced experimental psychosis model in mice. *Neurochem Res*. 2012;37:759-70.
- 34- Souto Maior FN. Atividade ansiolítica e antinociceptiva do óxido de linalol em modelos animais. João Pessoa. Tese [Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos]. Universidade Federal da Paraíba; 2011.
- 35- Xia X, Cheng G, Pan Y, Xia ZH, Kong LD. Behavioral, neurochemical and neuroendocrine effects of the ethanolic extract from *Curcuma longa* L. in the mouse forced swimming test. *J Ethnopharmacol*. 2007;110:356-63.
- 36- Dhingra D, Sharma A. Antidepressant-like activity of *Glycyrrhiza glabra* L. in mouse models of immobility tests. *Prog Neuropsychopharmacol*. 2006;30:449-54.

37- Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005;29:571-625.

38- Yu ZF, Kong LD, Chen Y. Antidepressant activity of aqueous of *Curcuma longa* in mice. *J Ethnopharmacol.* 2002;83:161-5.

Recibido: 25 de febrero de 2015.
Aprobado: 21 de octubre de 2015.

Amine Becheleni Pimenta. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e do Mucuri, Diamantina, MG, Brasil.
Correo electrónico:aminebecheleni@hotmail.com