



Avaliação de efeitos toxicológicos e comportamentais da *Hypericum perforatum* e da *Piper methysticum* em ratos

Lilian Tatiana de Araújo Teixeira¹, Lenilton Silva da Silveira Júnior¹, Fernando Marlisson de Queiroz¹, Claudia Nunes de Oliveira², Aline Schwarz^{3*}

¹Farmácia-generalista, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil; ²Departamento de Patologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil; ³Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil

ABSTRACT

***Hypericum perforatum* and *Piper methysticum* are phytotherapies frequently employed for the treatment of mild to moderate central nervous system depression**

There is no conclusive information in literature about the adverse side effects in human health. The aim of this study was to assess if these phytotherapies can promote toxic and/or behavioral alterations in rats. Adult male Wistar rats (17) were randomly divided into three groups. Two experimental groups (n=6) were treated by gavage with an aqueous solution obtained from commercial extracts of *H. perforatum* (15% m/v - 2 mg/kg/day of hypericine) or *P. methysticum* (7.5% m/v - 85.7 mg/kg/day of kavapirones). The control group (n=5) received only water by gavage. At day 31 the animal behavior was analyzed in the open field, elevated plus-maze and employing the forced swimming test. The animals were sacrificed for serum and tissues samples collection, allowing the biochemical and histopathological studies. The statistical analysis employed revealed no behavioral changes and absence of alterations at the parameters body weight gain, food and water intake, ALT, AST, urea and creatinine serum levels, and in the histopathological study. The data obtained show that rats treated with the respective plants aqueous solutions, did not present behavioral alterations or toxic effects.

Keywords: *Hypericum perforatum*, *Piper methysticum*, toxicity, behavior, rats

INTRODUÇÃO

A depressão vem atingindo de forma crescente a população mundial, constituindo um problema de saúde pública. Esta doença é um transtorno de humor que se manifesta através de alterações psicológicas, comportamentais e fisiológicas, apresentando prejuízos físicos e psicossociais (1).

Apesar dos avanços ocorridos na indústria de fármacos sintéticos, como o desenvolvimento de novas classes de agentes antidepressivos, os fitoterápicos não perderam seu lugar na terapêutica. (2,3). Porém, os fitoterápicos tornam-se uma alternativa incerta de se curar, tratar ou prevenir

doenças, já que há carência de pesquisas na área toxicológica, principalmente. (4). Observa-se nos últimos anos, uma adesão crescente aos produtos naturais, especialmente vegetais, como alternativa terapêutica. Essa crescente procura por drogas vegetais relaciona-se a fatores como alto índice de efeitos colaterais, alto custo de medicamentos sintéticos e a idéia de que o natural é inofensivo à saúde (5).

Produtos a base de *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae), popularmente conhecido por erva de São João e *Piper methysticum* F. (Piperaceae), conhecida por Kava Kava são largamente comercializados em todo território nacional (6).

O extrato de *H. perforatum* é utilizado no tratamento da depressão leve a moderada, sendo atribuída às hipericinas, uma das substâncias da sua composição química, a atividade antidepressiva, conforme estudos realizados na Áustria e na Alemanha (7).

A *Piper methysticum* está incluída ao gênero - *Piper* da família *Piperaceae*. (8). As suas ações farmacológicas são referidas às α -pironas, também conhecidas por cavapironas ou cavalactonas e tem sido utilizada para o tratamento da ansiedade, estresse, insônia, agitação, epilepsia, psicose e depressão (2).

*Autor correspondente. Endereço para correspondência: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Rua General Gustavo Cordeiro de Farias, s/n, Faculdade de Farmácia, 1º andar, Petrópolis, CEP 59012-570, Natal - RN. E-mail: aline_schwarz@yahoo.com.br. Tel.: (+5584) 4233-9826, (+5584) 4233-9796.

As preparações farmacêuticas constituídas de *Piper methysticum* quando utilizadas de forma oral e isolada, mostram-se seguras, durante um curto período de tempo. Porém, quando se consideram altas doses e/ou períodos prolongados a segurança é diminuída. (2)

A ANVISA, baseada em relato de casos graves de hepatite, insuficiência hepática e cirrose hepática em 25 pacientes da Alemanha e Suíça que usaram o produto à base de Kava Kava e Erva de São João, decidiu incluir uma tarja vermelha com a frase “venda sob prescrição médica” nos produtos, conforme RE nº 356/02 e RE nº 357/02. Embora não se tenha chegado à conclusão alguma em relação aos estudos sobre os efeitos colaterais da planta, a adoção dessa medida também foi motivada pelo fato de muitos brasileiros considerarem os produtos à base de plantas medicinais inócuos, incapazes de causar riscos à saúde. (9)

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar efeitos tóxicos e alterações comportamentais de *H. perforatum* ou de *P. methysticum* em ratos expostos por 30 dias com soluções aquosas contendo 15% massa/volume (m/v) ou 7,5% m/v, respectivamente.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

O projeto de pesquisa foi primeiramente aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Hospital Onofre Lopes da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (protocolo número: 253/08). Foram utilizados 17 ratos Wistar machos adultos, pesando inicialmente cerca de 180g, de mesma linhagem, obtidos do biotério do Centro de Ciências da Saúde da UFRN. Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno (40 x 50 x 20 cm), por um período não inferior a cinco dias antes de serem colocados nas diferentes situações experimentais. Os animais foram mantidos em sala com temperatura ambiente aproximadamente constante (23 a 26° C), num ciclo de 12 horas de claro/escuro, sendo a luz acesa às 6:00h. Água e ração foram oferecidos *ad libitum* durante todo o procedimento experimental.

Obtenção e preparo dos fitoterápicos

Os dois fitoterápicos foram obtidos no comércio. Os extratos secos de *H. perforatum* (Fornecedor Galena – lote: 20061120) e de *P. methysticum* (Fornecedor Genix - lote: 08000411) foram diluídos em água destilada. Foram adicionados 0,3 g de extrato seco de *H. perforatum* e 0,15 g de *P. methysticum* em 2 mL de água destilada. As soluções obtidas apresentaram respectivamente, 15% (m/v) e 7,5% (m/v).

Tratamento dos animais

Dois grupos experimentais, contendo seis animais cada, foram tratados durante 30 dias, por gavagem, com uma das soluções preparadas com os dois fitoterápicos. As doses empregadas de *H. perforatum* (2 mg/kg de hipericina) ou de *P. methysticum* (85,7 mg/kg de kavapironas) foram calculadas

considerando a dose máxima possível de ser prescrita ao ser humano que, segundo a literatura, é de 2,7 mg de hipericinas para *Hypericum perforatum* L. e de 120 mg de kavapironas para *Piper methysticum* (9). Segundo Regulamento Técnico de medicamentos fitoterápicos da ANVISA, a *Hypericum perforatum* é usada em dose diária de 0,9 a 2,7 mg de hipericinas e a *Piper methysticum* é usada em dose diária entre 60 a 120 mg de kavapironas, por via oral (9). No presente trabalho, adotou-se a posologia humana máxima para ambas, ou seja, 2,7 mg de hipericinas (*Hypericum perforatum*) e 120 mg de kavapironas (*Piper methysticum*) aumentadas em 50 vezes. Em seguida, a dose foi adequada ao peso de cada animal, considerando que o peso humano médio é de 70 kg. Para obter a quantidade das substâncias ativas (hipericinas e kavapironas) estabelecidas no cálculo da dose, foi feita a proporção conforme laudo técnico do fornecedor. O grupo controle, constituído de cinco animais, recebeu apenas água pela mesma via durante o período de tratamento.

Procedimentos

Durante o período de 30 dias de tratamento dos animais o peso corporal, a ingestão hídrica e o consumo de ração foram mensurados a cada dois dias. A ingestão hídrica foi obtida a partir da diferença do volume de água mensurada no bebedouro, considerando o volume inicial de 500mL (adicionado com auxílio de proveta graduada). O consumo de ração foi obtido após mensuração do peso da ração, considerando a quantidade inicial de 300g. O ganho de peso foi calculado empregando os valores de peso corporal (diferença entre o peso corporal final e o inicial).

Um dia após término do tratamento, os animais tiveram o comportamento geral avaliado no campo-aberto, segundo modelo descrito por Broadhurst (10), seguido de avaliação no labirinto em cruz elevado (20). Por fim, neste mesmo dia, os animais foram treinados para o teste da natação forçada, conforme modelo proposto por Porsolt *et. al.* (11), realizado no dia seguinte.

A atividade geral foi avaliada por observação direta dos animais no campo aberto, por um período de 5 minutos quando foram anotadas as frequências de locomoção e de levantar, imobilidade (segundos) e número de bolos fecais. Em seguida (após cinco minutos), cada animal foi adicionado, individualmente, também por cinco minutos, no labirinto em cruz elevado, onde foram anotados os parâmetros: número de entradas nos braços abertos, número de entradas nos braços fechados, tempo de permanência nos braços abertos, tempo de permanência nos braços fechados e tempo de permanência no centro do labirinto. Por fim, o comportamento dos animais foi analisado pelo teste da natação forçada. Neste teste, os animais foram primeiramente submetidos a um período de treinamento em um espaço restrito (tanque com água) sem possibilidades de fuga, por 15 minutos (11), no mesmo dia em que o comportamento dos animais foi observado no campo aberto e no labirinto em cruz elevado. No momento do teste, 24 horas após o treinamento, os animais foram analisados individualmente, por 5 minutos no tanque com água, onde

foram mensurados, em segundos, os tempos de natação e de imobilidade.

Após a eutanásia com éter etílico a coleta de sangue e de porções teciduais possibilitaram os estudos bioquímico e histopatológico. Na análise bioquímica utilizou-se o plasma dos animais, determinando os níveis de creatinina, uréia, ALT (alanina aminotransferase) e AST (aspartato-aminotransferase) com o auxílio do equipamento de dosagem automática RA-50 Chemistry System (Bayer). As porções teciduais coletadas foram fixadas em solução de formaldeído 10%. Em seguida, foram embebidas em parafina histológica quando então foram seccionadas com auxílio de micrótomo (5 µm) para a confecção de lâminas histológicas. As lâminas foram coradas com hematoxilina:eosina (HE). Em seguida as lâminas foram observadas em microscópio óptico.

Análise estatística

Os dados obtidos de cada grupo experimental foram isoladamente comparados com o grupo controle, através do teste “t” de Student. Para todos os dados foi considerado o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

A análise estatística empregada revelou que os animais tratados com *H. perforatum* apresentaram reduzida ingestão hídrica nos dias 5, 9, 11, 15 e 17 e elevada ingestão hídrica no dia 29, quando comparados com o grupo controle, conforme observado na Tabela 1. Nos dias 5, 9, 11, 15, 17 e 19 do tratamento os animais que receberam o extrato de *P. methysticum* apresentaram reduzida ingestão hídrica e apenas no dia 21 apresentaram maior ingestão hídrica quando comparados com os animais controle, conforme demonstrado na Tabela 1.

A análise estatística revelou reduzido consumo de ração pelos animais experimentais que receberam a solução aquosa de *H. perforatum* nos dias 3, 5, 11 e 13 do tratamento, quando comparados com o grupo controle, conforme Tabela 2. Entretanto, foi observado reduzido consumo de ração pelos animais tratados com a solução de *P. methysticum* no dia 13 e elevado consumo de ração por esses animais experimentais no dia 19 do tratamento (Tabela 2).

A análise estatística não revelou alterações no ganho de peso dos animais experimentais quando comparados com o grupo controle, conforme demonstrado na Figura 1.

Após eutanásia dos animais e coleta de sangue, os órgãos pâncreas, rim esquerdo, fígado, testículos, baço foram removidos e seus pesos foram mensurados. A razão peso órgão/peso corporal em seguida foi calculada para cada órgão. A análise estatística não mostrou diferenças significativas entre as razões dos animais dos grupos experimentais e controle (Tabela 3), indicando que as soluções aquosas de *H. perforatum* e de *P. methysticum*, nessas condições experimentais, não foram capazes de promover alterações nos pesos dos órgãos analisados.

A análise estatística revelou ausência de alterações nos diversos parâmetros bioquímicos mensurados no plasma dos animais experimentais quando comparados com os parâmetros mensurados no plasma dos animais do grupo controle, conforme observado na Tabela 4. Além disso, o estudo histopatológico realizado não detectou lesões e degenerações celulares nos tecidos analisados (dados não mostrados), corroborando os achados encontrados no estudo bioquímico.

A análise estatística empregada revelou que o tratamento com as soluções aquosas de *H. perforatum* ou de *P. methysticum* não foram capazes de promover alterações no comportamento geral dos animais no campo aberto (Tabela 5), no labirinto em cruz elevado (Tabela 6) e no teste da natação forçada. Neste último, observou-se: tempo de natação (s) dos animais controle ($291,2 \pm 1,9$) e experimentais *H. perforatum* ($293,0 \pm 3,1$) e *P. methysticum* ($287,2 \pm 1,2$) e o tempo de imobilidade (s) dos animais controle ($8,8 \pm 1,9$) e experimentais *H. perforatum* ($7,0 \pm 3,1$) e *P. methysticum* ($10,8 \pm 1,5$).

DISCUSSÃO

Segundo Linde *et al.* (12) 23 estudos clínicos randomizados, envolvendo 1757 pacientes, revelaram que um extrato da erva de *H. perforatum* (300-1000 mg/dia) apresentou efeito antidepressivo superior ao placebo e semelhante aos convencionais antidepressivos tricíclicos empregados no tratamento da depressão, apresentando reduzidos efeitos colaterais. O menor índice de efeitos colaterais relatados em humanos no trabalho acima descrito e a ausência de importantes alterações fisiológicas, no ganho de peso corporal (Figura 1), no consumo de água e de ração (Tabela 1 e Tabela 2), no peso (Tabela 4) e histopatologia de órgãos diversos nos ratos tratados com a solução aquosa de *H. perforatum* (15% m/v contendo 2mg/kg de hipericinas) no presente estudo, indicam baixa toxicidade deste fitoterápico.

O uso prolongado de *P. methysticum* parece promover o baixo peso corporal de pacientes usuários (13), assim como o emprego excessivo desse fitoterápico pode causar alteração nas funções hepática e renal (14). O presente estudo revelou algumas variações entre a ingestão hídrica e o consumo de ração dos animais tratados com a *P. methysticum* e os animais controle. Porém essas variações não foram constantes nem uniformes, não mostrando estarem associadas ao tratamento, conforme demonstrado na Tabela 1 e Tabela 2. Além disso, as alterações observadas no consumo de água e de ração dos animais experimentais de ambos os grupos não foram capazes de provocar alterações no peso e no ganho de peso, conforme demonstrado na Figura 1.

As dosagens séricas das enzimas hepáticas AST e ALT têm sido utilizadas na investigação e monitoramento das doenças hepáticas. Os níveis séricos de ALT aumentam quando ocorrem alterações na permeabilidade dos hepatócitos. A AST é essencialmente mitocondrial e não é liberada tão

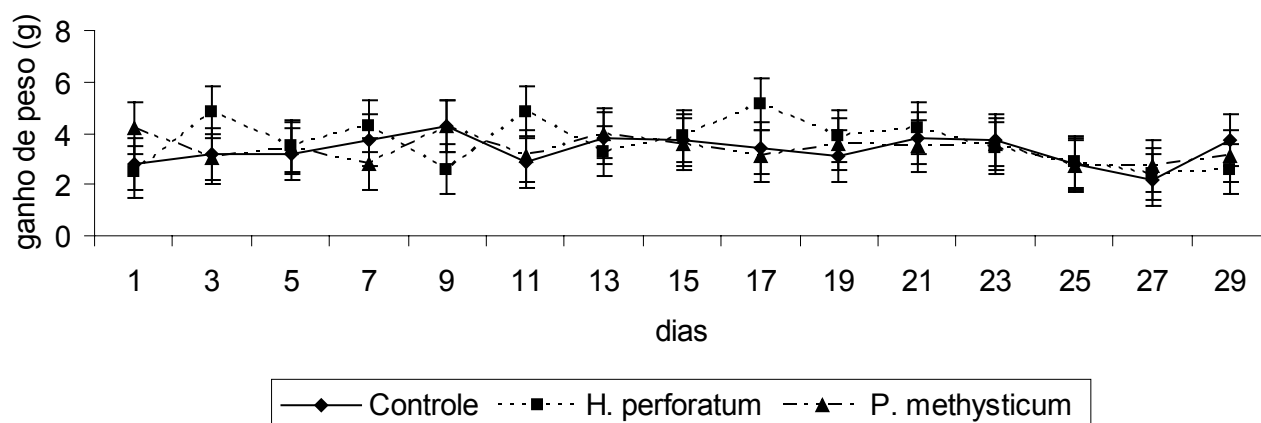


Figura 1. Variação de peso (g) de ratos tratados por gavagem com soluções aquosas de *H. perforatum* (2 mg/kg de hipericina) ou de *P. methysticum* (85,7mg/kg de kavapironas) por 30 dias (média \pm erro do desvio padrão).

Tabela 1. Ingestão hídrica (mL) de ratos tratados por gavagem com soluções aquosas de *H. perforatum* (2 mg/kg de hipericina) ou de *P. methysticum* (85,7mg/kg de kavapironas) por 30 dias (média \pm erro do desvio padrão).

Dia	Controle (n=5)	<i>H. perforatum</i> (n=6)	<i>P. methysticum</i> (n=6)
01	37,9 \pm 3,3	35,4 \pm 1,7	40,7 \pm 1,6
03	62,4 \pm 1,8	61,9 \pm 4,7	62,3 \pm 0,6
05	72,0 \pm 1,2	66,3 \pm 0,7 **	60,7 \pm 1,6 ***
07	49,0 \pm 1,6	50,0 \pm 1,4	50,8 \pm 0,3
09	38,9 \pm 2,7	30,0 \pm 1,4 *	29,8 \pm 0,3 **
11	62,0 \pm 1,8	51,0 \pm 0,6 **	54,6 \pm 0,3 **
13	48,9 \pm 4,5	53,8 \pm 2,2	53,7 \pm 0,8
15	57,7 \pm 1,2	51,2 \pm 2,2 *	50,8 \pm 1,5 **
17	63,8 \pm 0,6	60,0 \pm 1,4	60,5 \pm 0,9 *
19	68,2 \pm 0,7	67,5 \pm 1,4	61,8 \pm 0,7 ***
21	56,2 \pm 0,5	61,3 \pm 0,7	61,0 \pm 0,6 ***
23	56,2 \pm 2,5	57,5 \pm 4,3	52,4 \pm 0,3
25	61,1 \pm 2,5	62,5 \pm 1,4	60,2 \pm 1,1
27	62,3 \pm 0,8	58,8 \pm 2,2	61,0 \pm 2,5
29	62,9 \pm 1,3	67,5 \pm 1,4 *	62,8 \pm 1,7

Teste "t". *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

rapidamente quanto a ALT, que é citoplasmática. A ALT é o indicador mais sensível de hepatotoxicidade do que a AST, pois enquanto a primeira é essencialmente hepática, a segunda também pode ser encontrada em altas concentrações em outros órgãos como rins, pulmões e coração (15). O nível de uréia serve como estabelecimento de diagnóstico na distinção entre várias causas da insuficiência renal, não é tão específica como a creatinina (principal indicador da função

renal) (16). Observa-se elevação dos níveis de creatinina no sangue apenas quando há lesão aos néfrons funcionantes. Determinados autores referem que a maioria dos casos de insuficiência hepática podem não ter relação com o uso da Kava Kava e ainda que os relatos de hepatotoxicidade são insatisfatórios (17). O estudo realizado revelou ausência de alterações nos parâmetros bioquímicos no plasma dos animais tratados com ambos fitoterápicos (Tabela 5), sugerindo

Tabela 2. Consumo de ração (g) de ratos tratados por gavagem com soluções aquosas de *H. perforatum* (2 mg/kg de hipericina) ou de *P. methysticum* (85,7mg/kg de kavapironas) por 30 dias (média ± erro do desvio padrão).

Dia	Controle (n=5)	<i>H. perforatum</i> (n=6)	<i>P. methysticum</i> (n=6)
01	19,6± 1,5	15,4 ± 2,7	20,4 ± 2,2
03	31,0 ± 2,7	27,0 ± 0,6 *	32,6 ± 1,5
05	38,8 ± 2,0	23,0 ± 4,6 *	37,6 ± 0,3
07	36,2 ± 1,7	31,5 ± 0,3 *	35,6 ± 0,3
09	35,6 ± 2,7	32,0 ± 1,7	33,0 ± 1,2
11	34,8 ± 2,0	29,5 ± 0,3 *	34,0 ± 1,2
13	46,0 ± 4,9	30,0 ± 2,3 *	34,6 ± 0,3 *
15	46,0 ± 6,1	30,5 ± 0,9	32,6 ± 0,3
17	47,2 ± 6,6	33,0 ± 0,6	35,6 ± 1,0
19	32,4 ± 0,3	33,5 ± 2,6	34,8 ± 0,7 *
21	36,2 ± 0,5	39,0 ± 2,3	36,6 ± 1,0
23	33,8 ± 3,2	31,5 ± 2,0	33,2 ± 0,7
25	38,8 ± 2,0	38,0 ± 2,3	37,8 ± 0,5
27	36,0 ± 2,5	34,5 ± 0,9	36,4 ± 0,3
29	36,0 ± 2,5	36,5 ± 0,3	37,4 ± 0,3

Teste “t”. *p<0,05.

Tabela 3. Razão peso órgão/peso corporal de ratos tratados por gavagem com soluções aquosas de *H. perforatum* (2 mg/kg de hipericina) ou de *P. methysticum* (85,7mg/kg de kavapironas) por 30 dias (média ± erro do desvio padrão).

Órgão	Controle (n=5)	<i>H. perforatum</i> (n=6)	<i>P. methysticum</i> (n=6)
Pâncreas	0,0017 ± 0,0001	0,0015 ± 0,0001	0,0018 ± 0,0002
Rim esquerdo	0,0038 ± 0,0001	0,0036 ± 0,0001	0,0038 ± 0,0001
Fígado	0,0384 ± 0,0013	0,0372 ± 0,0014	0,0390 ± 0,0013
Testículo	0,0048 ± 0,0002	0,0045 ± 0,0002	0,0046 ± 0,0002
Baço	0,0016 ± 0,0001	0,0016 ± 0,0001	0,0015 ± 0,0002

Teste “t”

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos de ratos tratados por gavagem com solução aquosa de *H. perforatum* (2 mg/kg de hipericina) ou de *P. methysticum* (85,7mg/kg de kavapironas) por 30 dias (média ± erro do desvio padrão).

Teste	Controle (n=5)	<i>H. perforatum</i> (n=6)	<i>P. methysticum</i> (n=6)
Creatinina (mg/dL)	0,88 ± 0,05	0,85 ± 0,05	0,8 ± 0,03
Uréia (mg/dL)	63,3 ± 1,8	66,3 ± 4,3	66,7 ± 2,7
ALT (U/L)	73,0 ± 6,7	68,5 ± 5,5	68,0 ± 6,0
AST (U/L)	165,1 ± 9,1	215,8 ± 31,5	203,6 ± 39,0

Teste “t”

Tabela 5. Atividade geral de ratos tratados por gavagem com as soluções aquosas de *H. perforatum* (2 mg/kg de hipericina) ou de *P. methysticum* (85,7mg/kg de kavapironas) por 30 dias, no campo aberto (média ± erro do desvio padrão).

Parâmetros	Controle (n=5)	<i>H. perforatum</i> (n=6)	<i>P. methysticum</i> (n=6)
Locomoção (n°)	40,80 ± 14,3	45,0 ± 15,0	56,2 ± 11,2
Levantar (n°)	11,0 ± 4,0	14,3 ± 2,5	17,2 ± 2,8
Defecações (n°)	4,4 ± 0,8	3,5 ± 1,2	2,6 ± 0,9
Imobilidade (s)	43,6 ± 21,5	41,8 ± 18,5	25,6 ± 18,9
Grooming (s)	31,8 ± 7,3	28,8 ± 10,8	51,4 ± 24,3

Teste “t”

Tabela 6. Comportamento de ratos tratados com soluções aquosas de *H. perforatum* (2 mg/kg de hipericina) ou de *P. methysticum* (85,7mg/kg de kavapironas) por 30 dias no labirinto em cruz elevado (média ± erro do desvio padrão).

Parâmetros	Controle (n=5)	<i>H. perforatum</i> (n=6)	<i>P. methysticum</i> (n=6)
NA	1,2 ± 0,4	1,3 ± 0,3	1,0 ± 0,4
NF	2,2 ± 0,7	1,5 ± 0,5	2,2 ± 0,6
TA	14,4 ± 5,9	22,8 ± 7,3	16,4 ± 7,3
TF	264,4 ± 10,4	250,8 ± 10,8	255,8 ± 6,3
TC	5,8 ± 2,5	10,5 ± 3,5	19,0 ± 2,5

Teste “t”.

NA= n° de entradas nos braços abertos; NF=n° de entradas nos braços fechados; TA= tempo de permanência nos braços abertos (s); TF= tempo de permanência nos braços fechados (s); TC = tempo de permanência no centro (s).

ausência de prejuízos hepático e renal, fato confirmado pelo estudo histopatológico que não revelou lesão tecidual.

Assim, não foi evidenciada nesse trabalho, a hepatotoxicidade relacionada ao uso da Kava Kava relatada em casos ocorridos na Suíça e na Alemanha (18). Vários são os fatores que podem ser aqui especulados como responsáveis por essa ausência de hepatotoxicidade em ratos: a dose utilizada e o tempo de exposição não serem suficientes para demonstrar tal efeito nessa espécie; a espécie mostrar-se menos sensível que o ser humano aos efeitos nocivos dos fitoterápicos em estudo.

O campo aberto é um modelo animal que possibilita registrar o comportamento geral através da atividade exploratória do animal. Observa-se que reduzida atividade motora e altas contagens de bolos fecais frequentemente indicam reação de medo do animal. Ratos com medo apresentam um comportamento tigmotático, ou seja, eles procuram não se aventurar para longe das paredes da câmara, além de evitar explorar o ambiente, não ficando sobre as patas traseiras. Os ratos apresentam tal comportamento de medo quando introduzidos num campo aberto desconhecido, assim tendem a permanecer imóveis, deixando inclusive de realizar a limpeza (grooming), comportamento habitual dessa espécie

(19). Os animais experimentais desse estudo não mostraram alterações nos parâmetros locomoção, levantar, imobilidade e número de bolos fecais, após análise no campo aberto (Tabela 5). Diante disso, é possível afirmar que o tratamento nas doses e período estipulados, não foi capaz de promover alterações comportamentais como relaxamento e diminuição do medo.

Segundo Pellow *et al.* (20) o labirinto em cruz elevado baseia-se no medo inato e no comportamento natural exploratório de ratos, além de ser muito relevante na avaliação de drogas que atuam modificando os níveis de ansiedade. Sabe-se que fármacos ansiogênicos aumentam o número de entradas e o tempo de permanência nos braços fechados do labirinto e fármacos ansiolíticos resultam no comportamento contrário, ou seja, no maior tempo de permanência dos animais nos braços abertos além do maior número de entrada nos mesmos. No estudo realizado, os animais experimentais não apresentaram comportamento diferente daquele demonstrado pelos animais do grupo controle, sugerindo que o tratamento dos animais, com as doses empregadas e pelo período de tempo de duração, não foi capaz de promover efeitos ansiolíticos. Isso provavelmente ocorreu pelo fato dessas ervas serem empregadas como antidepressivos e não como ansiolíticos.

A natação forçada é um teste rotineiramente empregado pela indústria farmacêutica para screening de fármacos antidepressivos. Baseia-se no desespero comportamental (11) onde o animal é submetido a uma situação inescapável de estresse, no caso a natação, e, após 24 horas dessa experiência é novamente mantido na mesma situação, quando então são avaliados parâmetros como tempo de duração da natação e tempo de permanência sem natação, esse último interpretado como desistência da fuga ou da vida. Quanto maior for o tempo de natação e menor o tempo de imobilidade, maior o potencial antidepressivo das substâncias testadas. O presente trabalho mostrou ausência de alterações nos tempos de natação e de imobilidade entre os animais experimentais e controles, sugerindo que a dose empregada e, provavelmente o tempo de duração do tratamento, não foram capazes de promover o efeito desejado, uma vez tratando-se de drogas com sabida ação antidepressiva em humanos.

Em conclusão, o presente estudo demonstra que as soluções aquosas dos extratos de *H. perforatum* (15% m/v - 2 mg/kg de hipericina) e de *P. methysticum* (7,5% - 85,7mg/kg de kavapironas) administradas oralmente, durante 30 dias, não produziram efeito antidepressivo específico em ratos. Além disso, toxicidade também não foi evidenciada, indicando que a atividade antidepressiva destes fitoterápicos parece não estar associada apenas à dose utilizada e ao tempo de exposição, mas principalmente a uma predisposição individual dependente da espécie estudada. Por outro lado, deve-se considerar que a ausência de diferenças estatísticas nos parâmetros comportamentais pode ser decorrente do baixo número de animais/grupo.

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho foi realizado com o apoio do Biotério do Centro de Ciências da Saúde da UFRN que nos forneceu os animais, a ração, as gaiolas e o espaço adequado para a permanência dos animais durante o período de tratamento. Fica registrado nossa gratidão à UFRN por ter tornado possível desenvolver essa pesquisa.

RESUMO

As ervas *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum* são frequentemente empregadas no tratamento de depressões leves a moderadas. O presente trabalho objetivou analisar efeitos tóxicos e alterações comportamentais desses fitoterápicos em ratos. Foram utilizados 17 ratos machos Wistar adultos, separados em três grupos: controle (n=5) e experimentais (n=6/grupo). Os animais experimentais receberam, por gavagem, soluções aquosas de *H. perforatum* (15% m/v) contendo 2 mg/kg de hipericina, ou de *P. methysticum* (7,5% m/v) contendo 85,7 mg/kg de kavapironas, diariamente durante 30 dias. Um dia após término do tratamento, os animais tiveram o comportamento avaliado no campo-aberto, no labirinto em cruz elevado e pelo emprego do teste da natação forçada. Em seguida, os animais foram

submetidos à eutanásia para a coleta de amostras de sangue e tecidos para estudos bioquímicos e histopatológicos. A análise estatística dos dados indicou que as soluções aquosas empregadas não foram capazes de promover alterações comportamentais nem toxicidade, por não terem sido observadas alterações nos parâmetros ganho de peso, ingestão hídrica, consumo de ração, níveis séricos de ALT, AST, uréia e creatinina, e no estudo histopatológico. Portanto, o presente trabalho sugere que os fitoterápicos, nas dosagens e tempo de administração, empregados não foram capazes de causar toxicidade e alterações comportamentais em ratos.

Palavras-chave: *Hypericum perforatum*, *Piper methysticum*, toxicidade, comportamento, ratos

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nestler EJ, Barrot M, Dileonem RJ, Eisch AJ, GOLD SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron*. 2002. 34:13-25.
2. Cordeiro CHG, Chung MC, Sacramento LVS. Interações medicamentosas de fitoterápicos e fármacos: *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum*. *Rev Bras Farmacogn*. 2005. 15(3):272-278.
3. Lima IVM, Sougey EB, Vallada Filho HP. Farmacogenética do tratamento da depressão: busca de marcadores moleculares de boa resposta aos antidepressivos. *Rev Psiquiatr Clín*. 2004. 31(1):1893-1897.
4. Morais IC, Silva LDG, Ferreira HD, Paula JR, Tresvenzol LMF. Levantamento sobre plantas medicinais comercializadas em Goiânia; abordagem popular (raizeiros) e abordagem científica. *Revista Eletrônica de Farmácia*. 2005. 2(1): 13-16.
5. Rates SMK. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. *Rev Bras Farmacogn*. 2001. 11(2): 57-69.
7. Fugh BA. Herb-drug interactions. *Lancet*. 2000. 355(9198):134-138.
8. Bahls S. Tratamento fitoterápico da depressão. *J Bras Psiquiatr*. 2001. 50(11-12):389-396.
9. Nakamura CV, Santos AO, Vendrametto MC, Luize OS, Dias Filho BP, Cortez D, Ueda-Nakamura T. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq) C. DC. Var. *pallenscens* (C. DC.). Yunck. *Rev Bras Farmacogn*. 2006. 16(1):61-66.
10. ANVISA. (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Ministério da Saúde. BRASIL. Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999. Regulamento Técnico para Medicamentos Fitoterápicos. 2002.
11. Broadhurst PL. Experiments in psychogenetics. In: Eysenk H.J. (editor). *Experiments in Personality*. London: Rutledge and Kegan Paul, 1960. 125.

12. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacol Ther.* 1977. 229:327-336.
13. Linde K, Ramirez G, Mulrow CD, Pauls A, Weidenhammer W. St John's wort for depression: an overview and metaanalysis of randomised clinical trials. *BMJ.* 1996. 313:253-8.
14. Cañigüeral S, Vila R. *Fitoterapia: Concepto y Limites, Fuentes de Información.* Espanha: Masson & Cie, 1998.
15. Turolla MS, Nascimento ES. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. *Rev Bras Cienc Farm.* 2006. 42:289-306.
16. Al-habori M, Al-aghbari A., Al-mamary M, Baker M. Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. *J Ethnopharmacol.* 2002. 83:209-217.
17. Motta TV. *Bioquímica Clínica para laboratório – Princípios e Interpretações.* São Paulo: Medica Missau. 2003. 4:262.
18. Anke J, Ramzan I. Pharmacokinetic and pharmacodynamic drug interactions with Kava (*Piper methysticum* Forst f.). *J Ethnopharmacol.* 2004. 93:153-160.
19. Boon HS, Wong AHC. Kava: a test case for Canada's new to natural health products. *Canad Med Assoc J.* 2003. 169:1163.
20. Cruz APM, Zagrossi-Júnior H, Graeff FG, Landeira-Fernandez J. Modelos Animais de Ansiedade: Implicações Para a Seleção de Drogas Ansiolítica. *Psicol: Teor e Pesq.* 1997. 13:269-278.
21. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open-closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Res.* 1985. 14:149-67.