

## AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E ATIVIDADE ANSIOLÍTICA DO DECOCTO DE *ERYTHRINA VELUTINA* WILLD

## EVALUATION OF ACUTE TOXICITY AND ANXIOLYTIC ACTIVITY OF *ERYTHRINA VELUTINA* WILLD DECOCTE

Daniella Isla Medeiros Dantas<sup>1</sup>  
Yasmim Vilarim Barbosa<sup>2</sup>  
Maria Elaine Cristina Araruna<sup>3</sup>  
Pablo Rayff da Silva<sup>4</sup>  
Vanda Lucia Santos<sup>5</sup>

### RESUMO

*Erythrina velutina*, conhecida como mulungu, é uma espécie nativa da Caatinga, bioma brasileiro único e com características semiáridas. Essa espécie é utilizada popularmente na forma de decocto como sedativa, anticonvulsivante, neuroprotetora e ansiolítica. A ansiedade patológica é uma desordem psíquica que, atualmente, é a causa mais comum de incapacidade em todo o mundo, fato que intensificou a busca por novos tratamentos com menos efeitos adversos e melhor eficácia terapêutica. Dessa forma, o presente artigo teve como objetivo avaliar o efeito toxicológico agudo do decocto de *Erythrina velutina* (DEv) e investigar seu possível efeito ansiolítico. Foi avaliada a toxicidade aguda oral em camundongos durante 14 dias. A prospecção da atividade ansiolítica do DEv foi realizada por meio de testes comportamentais em camundongos, como Teste em Labirinto cruz elevada (TLCE) e medidas etológicas (espreitas, levantar-se, auto-limpeza e mergulho de cabeça), Teste da Movimentação Espontânea (TME) e teste de barra giratória (rota rod). A toxicidade aguda em camundongos não demonstrou sinais de toxicidade do decocto na dose testada. No TLCE, o DEv apresentou efeito ansiolítico, houve redução dos fatores etológicos (espreita, mergulho de cabeça e auto-limpeza), no campo aberto o decocto aumentou no número de ambulação, reduziu a auto-limpeza e não modificou o levantar-se. No teste rota rod, pode-se presumir que o DEv apresentou alteração na atividade motora.

<sup>1</sup>Mestrado em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual da Paraíba, Brasil. E-mail: daniellaislamd@gmail.com

<sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF da Universidade Estadual da Paraíba, Brasil. E-mail: yasmimvilarimb@gmail.com

<sup>3</sup>Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos pela Universidade Federal da Paraíba, Brasil. E-mail: elaine.araruna@gmail.com

<sup>4</sup>Doutor em Produtos Naturais Sintéticos e Bioativos pela Universidade Federal da Paraíba, Brasil. E-mail: pablo-rayff@hotmail.com

<sup>5</sup>Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos pela Universidade Federal da Paraíba. Professor da Universidade Estadual da Paraíba e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UEPB, Paraíba, Brasil. E-mail: vandasantos@servidor.uepb.edu.br

Dessa forma, foi possível comprovar que o DEv apresenta promissora atividade ansiolítica, corroborando com seu uso popular.

**Palavras-chave:** mulungu; labirinto em cruz elevado fitoterapia.

## ABSTRACT

*Erythrina velutina*, known as mulungu, is a species native to the Caatinga, a unique Brazilian biome with semiarid characteristics. This species is popularly used in decoction form as a sedative, anticonvulsant, neuroprotective and anxiolytic. Pathological anxiety is a mental disorder that is currently the most common cause of disability worldwide, a fact that has intensified the search for new treatments with fewer adverse effects and better therapeutic efficacy. Thus, this article aimed to evaluate the acute toxicological effect of *Erythrina velutina* decoction (DEv) and investigate its possible anxiolytic effect. Acute oral toxicity was evaluated in mice for 14 days. The anxiolytic activity of DEv was investigated through behavioral tests in mice, such as the elevated plus maze test (ECMT) and ethological measures (peeking, standing up, self-grooming and head-diving), spontaneous movement test (SMT) and rota rod test. Acute toxicity in mice did not show signs of toxicity of the decoction at the dose tested. In the ECMT, DEv showed an anxiolytic effect, there was a reduction in ethological factors (peeking, head-diving and self-grooming); in the open field, the decoction increased the number of ambulations, reduced self-grooming and did not change rising up. In the rota rod test, it can be assumed that DEv showed changes in motor activity. Thus, it was possible to prove that DEv has promising anxiolytic activity, corroborating its popular use.

**Key words:** mulungu; elevated plus maze; phytotherapy.

**Artigo recebido em:** 14/10/2024

**Artigo aprovado em:** 12/12/2024

**Artigo publicado em:** 19/12/2024

Doi: <https://doi.org/10.24302/sma.v.13.5687>

## INTRODUÇÃO

As plantas medicinais exercem um papel fundamental na prevenção e tratamento de doenças, além de servirem como alimento, serem utilizadas em festejos e em atos religiosos, sendo por isso considerados sagrados em muitas culturas. Dessa forma, quer sejam inteiras ou partes específicas delas, podem ser usadas para fins medicinais e como matérias-primas na indústria farmacêutica e alimentícia<sup>1</sup>.

O Brasil é um país que possui um imenso potencial para o desenvolvimento da terapêutica com plantas medicinais e fitoterápicos, visto que é a maior diversidade

vegetal do mundo, aproximadamente 10% da flora mundial. Essa diversidade biológica é muito expressiva tanto em relação às potencialidades genéticas, como em relação ao número de espécies e de ecossistemas<sup>2</sup>. A Caatinga é um bioma brasileiro único e pouco estudado com características edafoclimáticas semiáridas. Acredita-se que essas características poderiam selecionar e induzir a biossíntese de novos e diversos metabólitos em espécies locais. Além disso, as espécies nativas da Caatinga apresentam escasso conhecimento até o momento em nível de metabólitos<sup>3</sup>.

As plantas do gênero *Erythrina* são empregadas essencialmente como depressores do Sistema Nervoso Central (SNC) na medicina popular e são importantes fontes de alcaloides tetracíclicos benzilisoquinolínicos bioativos<sup>4</sup>. *E. velutina* é uma espécie nativa da Caatinga<sup>5</sup>, utilizada na forma de decocto ou infuso que possui atividades sedativas, anticonvulsivantes, neuroprotetoras e ansiolíticas, atuando principalmente em alvos do SNC<sup>6</sup>.

Dessa forma, o presente estudo objetivou realizar a prospecção da atividade ansiolítica do decocto obtido das cascas de *E. velutina*, uma forma de extração ainda não estudada, visando à validação de alegações etnobotânicas não confirmadas.

## **METODOLOGIA**

### **Material vegetal e obtenção do extrato**

As cascas de *E. velutina* foram coletadas em agosto de 2019 na região semiárida do Estado da Paraíba, no município de Puxinanã, em sítio particular com geolocalização: 7°10'11.1136.2"S – 35°58'53.6157.5"W. A exsicata foi preparada e identificada no herbário Professor Jayme Coelho de Moraes (PRU) da Universidade Federal da Paraíba, sob o número HACAM 3216.

O material vegetal foi seco a 40°C em estufa com circulação de ar, até obter peso constante. Em seguida, as cascas secas foram trituradas em moinho de facas no Laboratório de Sementes do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus de Picuí, para a obtenção do pó finamente granulado.

Foi realizada a decocção da droga vegetal, para isso pesou-se 5 g, 10 g e 20g da droga vegetal, sendo adicionados 100 mL de água destilada. A solução foi colocada sob uma tela de amianto e aquecida com o auxílio de um bico de bunsen, até atingir seu ponto de ebulição. Em seguida, a solução foi resfriada a temperatura ambiente e posteriormente filtrada. Ao final do processo, se obteve o decocto na concentração de 5 %, 10 % e 20 % (m/v).

## Análise fitoquímica

Foi realizado um estudo quantitativo, por espectrofotometria na região do visível, utilizando o espectrofotômetro (*Shimadzu Uvmini-1240*), para a determinação dos metabólitos secundários (polifenóis totais, flavonoides totais e taninos condensados) presentes nos extratos das diferentes espécies vegetais. Os comprimentos de onda foram escolhidos a partir de registros descritos em metodologias de referência com comprimento de onda de maior absorbância para cada metabólito.

### Determinação do teor de polifenóis totais

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 3 e 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de ácido gálico, analisadas em aparelho anteriormente descrito, para a leitura da absorbância em 757 nm. As leituras foram realizadas com amostras das soluções da na presença do reagente de Folin-Ciocalteu em meio alcalino relacionando os valores de absorbância encontrados, com a concentração de polifenóis da solução, através de uma relação matemática obtida pela curva de calibração.

De acordo com a técnica, distribuiu-se em tubos de ensaio 0,5 mL da solução do reagente de Folin-Ciocalteu 1N e posteriormente, 0,5 mL de solução do DEv. Os tubos ficaram em repouso por 2 minutos, à temperatura ambiente (25°C). Em seguida, adicionou-se 1 mL de uma solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 20% (m/v). Os tubos ficaram em repouso novamente por 10 minutos até a reação colorimétrica ser completada. As medidas foram obtidas em triplicata, em comprimento de onda ajustado para 757 nm. A concentração da DEv foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorbância espectral obtida através da curva de calibração. O resultado da absorbância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 0,5 mL da solução de extrato e 1,5 mL de água deionizada, onde foi subtraído os valores de absorbância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores do que zero e estavam dentro dos limites de absorbância de trabalho.

### Determinação do teor de flavonoides totais

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 2 e 28  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , de quercetina, analisadas em aparelho anteriormente descrito, para a leitura da absorbância em 415 nm. As leituras das amostras da DEv foram realizadas na presença de soluções do cloreto de alumínio relacionando os valores de absorbância encontrados com a concentração de flavonóides da solução através de uma relação matemática obtida pela curva de calibração.

Distribuiu-se em tubos de ensaio 1,5 mL de solução metanólica de  $\text{AlCl}_3$  2% (p/v) e posteriormente 1,5 mL de solução metanólica do DEv. Os tubos ficaram em repouso por 10 minutos, à temperatura ambiente (25 °C). As medidas foram obtidas em triplicata, em comprimento de onda ajustado para 415 nm. A concentração da DEv

foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorvância espectral, obtida através da curva de calibração. O resultado da absorvância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 1,5 mL da solução do extrato e 1,5 mL de metanol, subtraindo os valores de absorvância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores que zero e estavam dentro dos limites de absorvância de trabalho.

#### Determinação do teor de taninos condensados

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 10 e 100 µg mL<sup>-1</sup> de catequina analisadas em aparelho anteriormente descrito, para a leitura da absorvância em 500 nm. As leituras das amostras do DEv foram realizadas na presença de uma solução de vanilina, em meio ácido, relacionando os valores de absorvância encontrados com a concentração de taninos condensados da solução através de uma relação matemática obtida pela curva de calibração.

De acordo com o procedimento técnico, distribuiu-se em tubos de ensaio 1,5 mL de solução metanólica de vanilina 4% (p/v) e posteriormente 0,25 mL de solução metanólica do DEv e 0,75 mL de HCl P.A. Os tubos permaneceram em repouso por 20 minutos, imersos em água a cerca de 22 °C. As medidas foram obtidas em triplicata, em comprimento de onda ajustado para 500 nm. A concentração da DEv foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorvância espectral, obtida através da curva de calibração. O resultado da absorvância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 0,25 mL da solução do extrato e 2,25 mL de metanol, subtraindo os valores de absorvância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores que zero e estavam dentro dos limites de absorvância de trabalho.

#### Animais

Os animais utilizados nos experimentos foram camundongos heterogênicos da linhagem *Mus musculus* – Swiss, com idade de 8 a 10 semanas, com o peso variando de 30 a 35 g. Os experimentos foram realizados no Centro de Bioterismo Professor Eduardo Barbosa Beserra, Câmpus I da Universidade Estadual da Paraíba.

Após os experimentos todos os animais foram eutanasiados com uma injeção de excesso de anestésicos, associação de ketamina 10% e xilazina 2%, via intraperitoneal. Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) a Universidade Estadual da Paraíba com o número 005/2020.

#### Toxicidade Aguda Oral

Foram utilizados 5 camundongos fêmeas e 5 machos. Os animais do grupo controle negativo receberam o veículo (solução salina a 0,9% - 10 mL. kg<sup>-1</sup>) por sonda

intragástrica e os animais do grupo experimental receberam o decocto (2000 mg.kg<sup>-1</sup>) pela mesma via. Foram realizadas observações comportamentais sistemáticas nos tempos de 30 min, 1h, 2h, 4h após a administração e, a partir de então, diariamente, até o décimo quarto dia, por meio do *screening* hipocrático<sup>7</sup>. O protocolo de triagem farmacológica comportamental segue em anexo.

Foi observado parâmetros como consumo de água e ração a cada 24 horas durante 14 dias e a massa corporal ao final dos 14 dias, quando os animais foram pesados, anestesiados e em seguida submetidos a eutanásia, sendo os órgãos (coração, fígado, baço, rins e estômago) retirados, pesados e avaliados macroscopicamente.

## Atividade ansiolítica

### Desenho experimental

O protocolo foi proposto para avaliar os efeitos comportamentais e ansiolíticos da administração do decocto *E. velutina*. Uma investigação do potencial ansiolítico foi realizada por meio dos testes de labirinto em cruz elevado, teste de movimentação espontânea e teste de barra giratória (*rota rod*), ambos de forma aguda.

Para a realização de cada experimento os animais foram separados em 5 grupos com 8 animais cada<sup>8</sup>, que foram selecionados de acordo com a randomização dos animais pela idade para receber um dos tratamentos.

Foram 3 grupos testes (DEv 5, 10 e 20 %, m/v), grupo controle negativo (veículo - solução salina 0,9%) e como grupo padrão, o diazepam (1mg/kg). O controle positivo, negativo e o DEv foram preparados imediatamente antes de cada teste e cada animal recebeu 10 mL/kg de seu peso. As administrações dos tratamentos foram realizadas por sonda intragástrica.

## Testes comportamentais

### Teste em Labirinto cruz elevada (TLCE)

Os animais sem acesso a água e comida por 1 hora<sup>8</sup> receberam os tratamentos. Uma hora após a administração dos tratamentos, cada animal foi submetido ao TLCE individualmente. O tempo de permanência de cada animal no TLCE foi filmado por 5 minutos, onde foi avaliado as entradas e tempo de permanência no braço, e comportamentos como levantar-se, espreita, auto-limpeza e mergulhos de cabeça<sup>9</sup>. Para o grupo controle positivo foi avaliado após trinta minutos da administração.

Só foi considerada “entrada” em um dos braços do labirinto quando as quatro patas do animal atravessavam o limite do braço em questão. A porcentagem de

entradas nos braços abertos e a porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos do TLCE foram calculadas de acordo com as seguintes fórmulas:

$$\% \text{ Entradas nos Braços Abertos} = \frac{\text{Entrada nos braços abertos}}{\text{Entrada nos braços abertos} + \text{Entrada nos braços fechados}} \times 100$$

$$\% \text{ Entradas nos Braços Abertos} = \frac{\text{Tempo nos braços abertos}}{\text{Tempo braços abertos} + \text{Tempo nos braços fechados}} \times 100$$

### Teste da Movimentação Espontânea

O Teste de Movimentação Espontânea (TME), que fornece medidas simultâneas de locomoção, exploração e ansiedade, foi utilizado para este estudo. O campo aberto é uma arena de 300x300 mm com finas listras pretas pintadas no chão, dividindo-a em 16 blocos quadráticos<sup>10</sup>. Os camundongos após passarem pelo teste de labirinto em cruz foram colocados no centro da arena e um observador quantificou a locomoção ambulatorial espontânea (nº de quadrados cruzados, nº de *rearings* e nº *grooming*) de cada camundongo por 5 min<sup>7</sup>.

### Teste de barra giratória (rota rod)

O teste da barra giratória (*rota rod*) baseia-se em colocar os roedores sobre uma barra giratória a uma velocidade constante e monitorar a capacidade dos mesmos em manter-se em equilíbrio sobre ela e, assim, medir o efeito de relaxamento muscular ou de incoordenação motora dos animais produzidas por substâncias com propriedades ansiolíticas<sup>7</sup>.

Este aparato consiste em uma barra plástica rugosa de 3 cm de diâmetro e 50 cm de comprimento que gira a uma velocidade de 5 rpm. Esta barra é dividida em 5 seções iguais para possibilitar a avaliação individual de 5 animais ao mesmo tempo. A altura da barra em relação à base do aparelho é de 25cm.

Uma hora após a administração dos tratamentos citados nos testes anteriores, cada animal foi colocado individualmente sobre a barra giratória a uma velocidade constante e foram monitorados em relação a capacidade dos mesmos em manter-se em equilíbrio sobre a barra<sup>7</sup>. O grupo controle positivo foi avaliado após trinta minutos da administração da droga de referência.

## Análise estatística

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão da média e os grupos experimentais foram comparados aos seus respectivos controles. Para comparação de médias entre os grupos foi usado o teste “t” de *Student* e para comparação múltipla dos parâmetros foi utilizado a Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de *Tukey*. Em todas as análises foram considerados estatisticamente significantes valores de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

### Triagem fitoquímica

O método semiquantitativo foi garantido por meio da construção da curva analítica e leitura no espectrofotômetro. A quantificação de polifenóis, flavonoides e taninos, foram de 1,24% ( $12,42 \times 10^{-6}$  mg/g), 0,88% ( $8,86 \times 10^{-6}$  mg/g) e 0,51% ( $5,12 \times 10^{-6}$  mg/g), respectivamente.

### Toxicidade aguda

No teste toxicidade aguda, a dose de 2000 mg/kg não provocou morte e a triagem farmacológica apenas evidenciou redução responsiva ao estímulo doloroso na cauda do animal. Passadas 24 horas não foi detectado nenhuma alteração.

A tabela 1 mostra os resultados da toxicidade, onde é possível observar que nenhum animal veio a óbito e nenhum sinal de toxicidade foi detectado nas observações comportamentais ou nas necropsias, com isso o decocto não apresentou toxicidade nas doses testadas.

Tabela 1 – Resultados de toxicidade aguda de *E. velutina*

	FÊMEAS		MACHOS	
	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento
<b>Nº de óbitos</b>	0	0	0	0
<b>Coração (g)</b>	0,429 $\pm$ 0,02	0,415 $\pm$ 0,02 <sup>ns</sup>	0,431 $\pm$ 0,07	0,439 $\pm$ 0,04 <sup>ns</sup>
<b>Fígado (g)</b>	4,336 $\pm$ 1,28	4,266 $\pm$ 1,68 <sup>ns</sup>	5,764 $\pm$ 0,48	5,447 $\pm$ 0,62 <sup>ns</sup>
<b>Rins (g)</b>	0,789 $\pm$ 0,05	0,787 $\pm$ 0,08 <sup>ns</sup>	0,775 $\pm$ 0,16	0,788 $\pm$ 0,09 <sup>ns</sup>
<b>Baço (g)</b>	0,458 $\pm$ 0,05	0,474 $\pm$ 0,08 <sup>ns</sup>	0,407 $\pm$ 0,05	0,418 $\pm$ 0,07 <sup>ns</sup>
<b>Estômago (g)</b>	1,120 $\pm$ 0,13	1,075 $\pm$ 0,05 <sup>ns</sup>	0,867 $\pm$ 0,05	0,903 $\pm$ 0,07 <sup>ns</sup>
<b>Consumo água (mL)</b>	39,29 $\pm$ 4,68	32,86 $\pm$ 3,03 <sup>***</sup>	28,43 $\pm$ 5,12	28,93 $\pm$ 5,47 <sup>ns</sup>
<b>Consumo ração (g)</b>	22,71 $\pm$ 4,59	20,86 $\pm$ 2,68 <sup>ns</sup>	25,29 $\pm$ 1,97	27,79 $\pm$ 6,71 <sup>ns</sup>
<b>Ganho de peso (g)</b>	0,600 $\pm$ ,548	0,200 $\pm$ 0,83 <sup>ns</sup>	1,000 $\pm$ 0,70	0,400 $\pm$ 1,14 <sup>ns</sup>

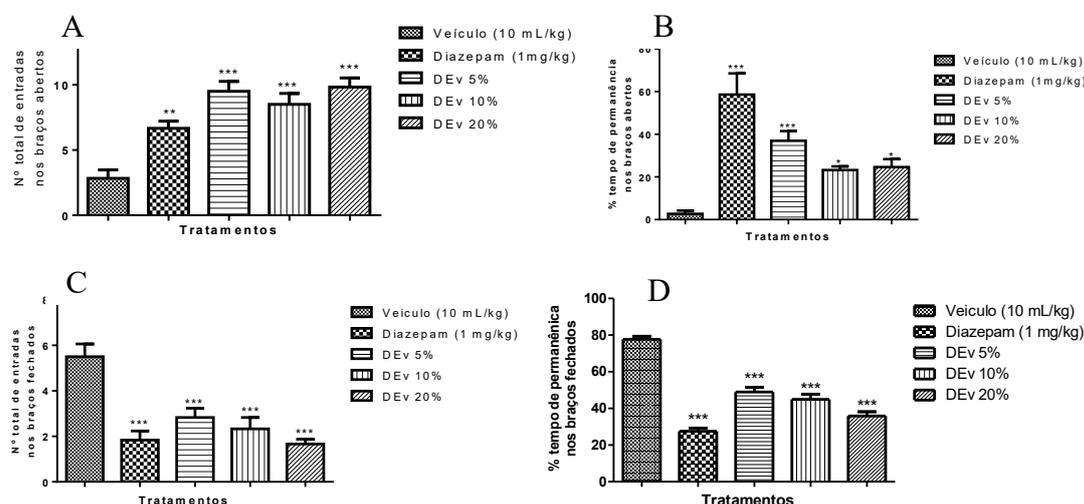
ns: não significativo; \*\*\*:  $p < 0,001$

## Atividade ansiolítica

## Teste em Labirinto cruz elevada (TLCE)

Na Figura 1 (A e B) é possível observar que no labirinto em cruz elevado, o DEv aumentou o número de entradas nos braços abertos e a porcentagem de tempo gasto nesses braços, de maneira significativa em todas as concentrações (5%, 10% e 20%), em relação ao grupo controle. Também foi observado uma redução no número de entradas e no tempo de permanência nos braços fechados (Fig. 1, C e D).

Figura 1 – Efeito da administração oral do DEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss no número de entradas e % tempo de permanência nos braços abertos (A e B) e nos braços fechados (C e D) no labirinto em cruz elevado



Os resultados estão expressos como média  $\pm$  d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao grupo veículo (solução salina 0,9 %), \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

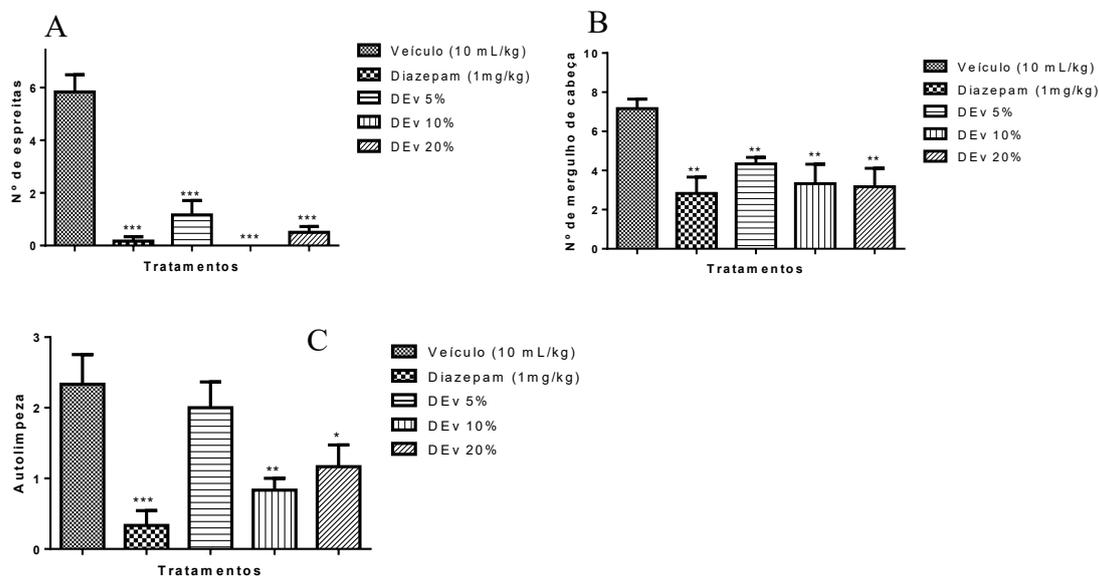
Os números de espreitas foram analisados no TLCE em que foi observado uma maior frequência desse comportamento no controle negativo (ausência de tratamento), ressaltando a hiper vigilância apresentada por indivíduos ansiosos. Os grupos de animais tratados com o DEv e diazepam apresentaram significativa redução deste comportamento, promovido provavelmente por a ação ansiolítica (Fig. 2A).

O mergulho de cabeça foi executado com maior regularidade pelo controle negativo, tendo os grupos tratados com o decocto ou diazepam, realizado uma redução desse comportamento de forma semelhante (Fig. 2B).

O comportamento de auto-limpeza foi avaliado pela periodicidade em que o animal realiza esse comportamento. O controle negativo apresentou um número elevado de movimentos de auto-limpeza, enquanto que os grupos tratados com

diazepam ou os DEv na dose de 10 e 20% reduziram de forma significativa esse comportamento, quando comparado ao grupo controle (Fig. 2C).

Figura 2 – Efeito da administração oral do DEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss no número de espreitas (A), mergulho de cabeça (B) e auto-limpeza (C)



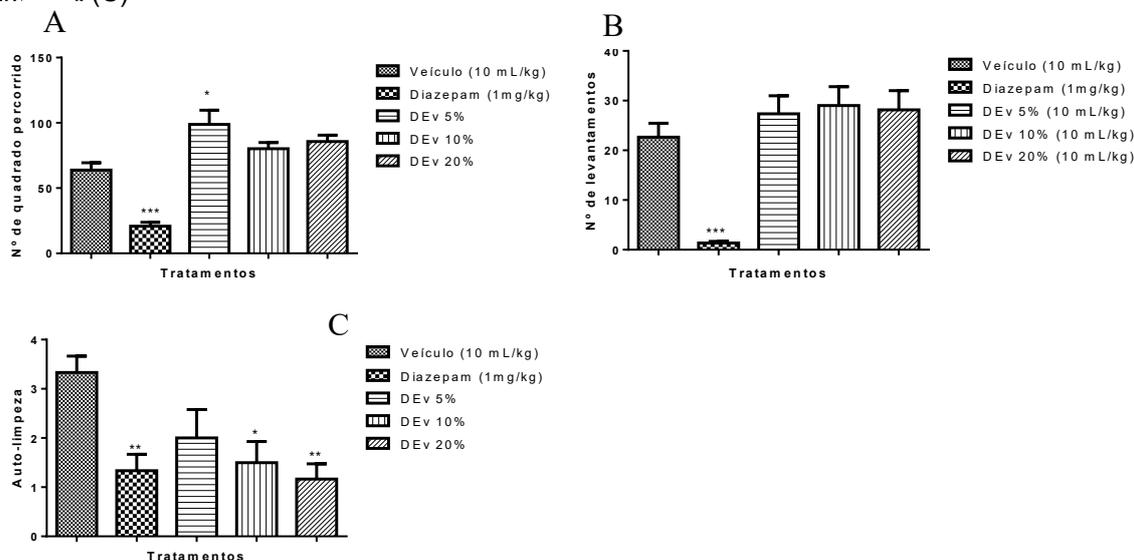
Os resultados estão expressos como média  $\pm$  d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao grupo veículo (solução salina 0,9 %), \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

### Teste da Movimentação Espontânea

Para medir a atividade motora do DEv mensurou-se o número de deslocamentos espontâneos que os animais realizaram no campo aberto, os quais estão apresentados na Figura 3A, em que é possível observar que houve aumento na atividade de locomoção nos grupos tratados com o DEv em todas as concentrações, pois o número de quadrados cruzados no perímetro aumentou significativamente em relação ao grupo controle negativo.

Neste teste, os animais tratados com DEv não apresentaram alteração significativa na frequência do ato de levantar-se, diferentemente do grupo tratado com o diazepam (Fig. 3B). Foi possível também observar uma redução significativa do número de auto-limpeza de forma semelhante ao controle positivo (Fig. 3C).

Figura 3 – Efeito da administração oral do DEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss no número de quadrado percorrido (A), no número de levantamentos (B) e no número de movimentos de auto-limpeza (C)

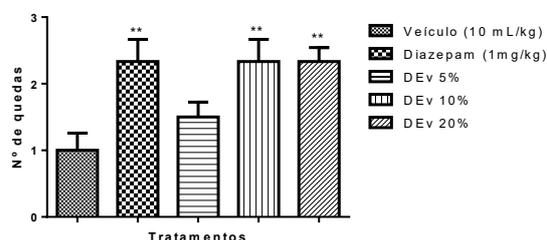


Os resultados estão expressos como média  $\pm$  d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao grupo veículo (solução salina 0,9 %), \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

#### Teste de barra giratória (rota rod)

Foi observado um aumento significativo na atividade motora dos animais tratados com DEv, ou seja, um aumento na frequência das quedas da barra giratória, como representado na Figura 4. O diazepam também apresentou um maior número de quedas, de forma semelhante aos grupos tratados.

Figura 4 – Efeito da administração oral do DEv (5, 10, 20%) em camundongos Swiss no número de quedas



Os resultados estão expressos como média  $\pm$  d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós teste de *Tukey* comparado ao grupo veículo (solução salina 0,9 %), \*\* $p < 0,01$ .

## DISCUSSÃO

Os compostos fitoquímicos são extraídos do metabolismo secundário da planta e as quantidades presentes nos materiais vegetais são diretamente influenciados por diversos fatores, como condições do solo, temperatura, sazonalidade, entre outros<sup>11</sup>.

A *Erythrina velutina* é uma espécie vegetal que possui uma vasta composição química, incluindo a presença de diversos metabólitos secundários, como alcalóides, flavonóides e terpenos, o que lhe garante diversas atividades farmacológicas comprovadas cientificamente, incluindo efeitos ansiolíticos, sedativos, anticonvulsivantes, antinociceptivos, antioxidantes e anti-inflamatórios<sup>12</sup>.

A triagem fitoquímica permitiu a quantificação dos metabólitos secundários. Foram quantificados os metabólitos polifenóis, flavonoides e taninos, resultados estes que corroboram com os estudos encontrados na literatura. De acordo com estudo de Ramos e colaboradores<sup>13</sup>, realizado com extratos hidroalcóolicos da folha e casca de *E. velutina*, também se observou a presença de taninos condensados, flavonoides, derivados cinâmicos, açúcares redutores e alcaloides.

O monitoramento do ganho de peso e consumo de alimentos e água em estudos com animais, bem como a verificação de alterações macroscópica nos órgãos (como alterações morfológicas e de coloração), é de suma importância, visto que alterações nesses fatores podem ser um indicador do estado de saúde geral do animal. Modificações dos valores nesses parâmetros são indicadores de efeitos adversos de um produto teste<sup>14</sup>.

Os resultados do presente estudo não demonstraram alteração nos parâmetros de ganho de peso e consumo de água e ração, assim como não houve óbitos, alterações comportamentais, ou alterações nas necrópsias dos animais, não havendo sinais de toxicidade aguda na dose testada.

Um estudo de toxicidade realizado com o extrato aquoso das folhas de *E. velutina* indica que, quando administrado agudamente, é atóxico por via oral em ratos. Não foi realizado exames histopatológicos, uma vez que não foram observadas alterações nas necropsias<sup>15</sup>.

Alguns estudos foram realizados envolvendo ensaios de toxicidade da *E. velutina*, demonstrando não haver efeitos hemolíticos nem tóxicos nas populações de células sanguíneas, mesmo em altas doses<sup>16,17</sup>. Os resultados apresentados no ensaio de toxicidade aguda desse estudo corroboram com os trabalhos anteriores.

O teste TLCE induz no animal um conflito, entre explorar um ambiente novo e a tendência em evitar áreas perigosas<sup>18</sup>. Os resultados nesse teste caracterizam que o DEv apresenta efeito ansiolítico-símile.

Estudos mostraram que extratos alcóolicos das folhas (20 mg/kg), e hidroalcóolicos das cascas do caule (100, 200, 400 mg/kg de forma aguda e 50, 100, 200 mg/kg de forma crônica) também aumentaram a porcentagem de entradas nos braços abertos e o tempo gastos nesses braços<sup>19,20</sup>. Esses dados sugerem uma ação ansiolítica aguda de extratos de *E. velutina*, como o sugerido para o decocto.

Já Vasconcelos e colaboradores<sup>21</sup> estudando os efeitos comportamentais centrais dos extratos hidroalcoólicos da casca do caule de *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu* nas doses de 200, 400 e 800 mg/kg (v.o) ou 200 e 400 mg/kg (i.p) em camundongos fêmeas, observou reduções no número de entradas nos braços aberto e fechado no TLCE após a administração da maior dose dos extratos. Os autores atribuíram este efeito à redução da atividade locomotora.

Ribeiro e colaboradores<sup>20</sup> avaliaram os efeitos do tratamento oral agudo (100, 200, 400 mg/kg) e crônico (50, 100, 200 mg/kg) do extrato hidroalcoólico de *E. velutina* em camundongos submetidos ao TLCE (para medidas de evitação e fuga) de ansiedade. Ambos os regimes de tratamento, prejudicou as latências de evasão, sem alterar o escape de uma forma semelhante ao diazepam. Dessa forma, os autores concluíram que o tratamento oral agudo e crônico com *E. velutina* exerce efeitos do tipo ansiolítico em um subconjunto específico de comportamentos defensivos que foram associados ao transtorno de ansiedade generalizada.

Um estudo anterior de Onusic e colaboradores<sup>22</sup> também encontrou resultados semelhantes para a espécie *Erythrina mulungu* (nativa do sul do Brasil), no qual o extrato hidroalcoólico das inflorescências desta planta reduziu as respostas relacionadas à ansiedade no TLCE e no modelo de transição claro /escuro.

Fatores etológicos como espreitas, autolimpeza e mergulhos de cabeça, são comportamentos que representam a avaliação de risco em que o camundongo antecipa um perigo potencial. Espreitas corresponde a postura em que o animal se estende cautelosamente adiante, sem, no entanto, retirar do lugar suas patas traseiras, voltando em seguida, à mesma posição; e a autolimpeza - limpeza de qualquer parte da superfície do corpo com a língua, dentes e/ou patas dianteiras. Alguns estudos relatam não haver correlação entre o comportamento de auto-limpeza e a ansiedade. Porém, existem indícios de que os benzodiazepínicos (como o diazepam) provoquem redução deste comportamento, por reduzirem a resposta aos estímulos ansiogênicos<sup>23</sup>. Mergulhos de cabeça são comportamentos exploratórios, no qual o animal examina a lateral do labirinto (braço aberto) em direção ao chão, sugerindo movimento vertical<sup>24,25</sup>.

No TLCE, mergulho de cabeça e espreitas parecem preencher os requisitos de uma avaliação de risco, um comportamento que pode ser relacionado à hipervigilância, característico de indivíduos ansiosos<sup>26</sup>. A avaliação de risco representa uma antecipação de um perigo potencial, sendo um comportamento defensivo de grande valor adaptativo. Ainda assim, indivíduos ansiosos parecem mais frequentemente tentar antecipar tal ameaça no intuito de lidar melhor com isto, o que acaba por trazer prejuízos para os mesmos. Desta forma, os animais mais ansiosos se aproximam vagarosamente da saída da plataforma central, exibindo alta frequência de espreitas e de mergulho de cabeça<sup>27</sup>.

Os grupos de animais tratados com o DEv apresentaram significativa redução desses comportamentos, promovido provalente por a ação ansiolítica.

O teste de Campo aberto ou movimentação espontânea também permite investigar a ação excitatória ou a depressora de uma droga sobre o sistema nervoso central<sup>28</sup>.

Segundo Barbosa e Lima<sup>29</sup> o aumento no número de cruzamentos está relacionado com a exploração, enquanto que, quando ocorre diminuição da atividade locomotora exploratória pode ter relação com a sedação resultante da depressão do SNC. Assim, esses resultados sugerem associar tal comportamento a uma possível diminuição dos níveis de ansiedade nos animais, mesmo quando submetidos a um ambiente novo e estressante.

O tratamento com Dev não demonstrou atividade ansiolítica neste parâmetro, pois foi observado que ocorreu um aumento de ambulação nos grupos tratados. Nossos resultados diferem do estudo realizado por Dantas e colaboradores<sup>30</sup> com o extrato hidroalcoólico das folhas em baixas doses (10 e 50 mg/kg), em que não houve alteração no número de cruzamentos, levantamento ou autolimpeza, mas que a dose de 200 mg/kg reduziu o número de cruzamentos e autolimpeza, mostrando que esses efeitos são dependentes da dose administrada.

Vasconcelos e colaboradores<sup>21</sup> mostraram redução da atividade locomotora após o tratamento intraperitoneal, e que esse comportamento foi observado apenas com doses maiores após a administração oral. Além disso, a administração oral e intraperitoneal dos extratos diminuiu a incidência de levantamento e autolimpeza.

Dessa forma, nossos resultados mostram que o decocto apresenta características de comportamento ansiolítico-símile, porém desprovido de efeito sedativo nas condições experimentais investigadas.

Com a finalidade de excluir a possibilidade de que um eventual efeito nos modelos descritos anteriormente seja devido a uma alteração na atividade locomotora, os camundongos foram submetidos ao teste Rota-Rod.

Verificou-se alterações motoras e/ou sedativas avaliadas no ensaio rota rod. Com base nesses resultados, pode-se presumir que o DEv, em todas as concentrações, apresentou atividade depressora no sistema nervoso central e alteram a adaptabilidade à atividade motora, indicando que uma possível propriedade miorelaxante.

Vasconcelos e colaboradores<sup>21</sup> estudaram os efeitos comportamentais centrais dos extratos hidroalcoólicos da casca do caule de *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu* no teste de rota rod. Não foi observada alteração no teste do *rota rod* após o tratamento com os extratos de *E. velutina* e *E. mulungu* nas doses (200, 400 ou 800 mg kg<sup>-1</sup>) e vias utilizadas (intraperitoneal e oral), demonstrando que os tratamentos não afetaram a coordenação motora no teste do rota rod. No entanto, nossos resultados mostram alteração na adaptabilidade à atividade motora, indicando que o DEv apresenta propriedades miorelaxantes.

## CONCLUSÃO

Considerando os dados experimentais obtidos na presente investigação conclui-se que a administração por via oral do decocto de *E. velutina* em camundongos mostrou-se seguro, com baixa toxicidade e apresentou promissora ação ansiolítica-simile, porém desprovida de atividade sedativa. O DEv também apresentou característica de atividade miorelaxante, semelhante a droga padrão Diazepam. Esses dados corroboram com o seu uso popular, sendo portanto, uma alternativa acessível e eficaz para o tratamento da ansiedade. Entretanto, a continuidade dos estudos é imprescindível para elucidar mecanismos de ação.

## REFERÊNCIAS

- 1 Corrêa AM, Alves LA, Rocha JA. Organizando os usos e funções dos vegetais: a etnobotânica auxiliando na prevenção e diminuição da cegueira botânica. *Educação*. 2021 may 28;46(1):1–26. doi: 10.5902/1984644440631.
- 2 Alves FM, Lehn CR, Damasceno-Júnior GA, Sartori ALB, Pott A, Pott VJ, et al. Coleções Botânicas do estado de Mato Grosso do Sul: situação atual e perspectivas. *Iheringia, Série Botânica*. 2018 mar. 15;73:93-100. doi: 10.21826/2446-8231201873s93.
- 3 Chacon DS, Torres TM, Silva IB, de Araújo TF, Roque AA, Pinheiro FASD, et al. *Erythrina velutina* Willd. alkaloids: Piecing biosynthesis together from transcriptome analysis and metabolite profiling of seeds and leaves. *J Adv Res*. 2021 Feb 10;34:123–136. doi: 10.1016/j.jare.2021.01.017.
- 4 Rambo DF, Biegelmeier R, Toson NSB, Dresch RR, More-No PRH, Henriques AT. Box–Behnken experimental design for extraction optimization of alkaloids from *Erythrina verna* Vell. trunk barks and LC method validation. *Ind Crop Prod*. 2019 Mar;133:250–258. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.03.030.
- 5 Bessa MC, Lacerda CF, Amorim AV, Bezerra AME, Lima AD. Mechanisms of salt tolerance in seedlings of six woody native species of the Brazilian semiarid. *Rev. Ciênc. Agron*. 2017 Jan-Mar;48(1):157–165. doi: 10.5935/1806-6690.20170018.
- 6 Fahmy NM, Al-Sayed E, El-Shazly M, Singab AN. Alkaloids of genus *Erythrina*: An updated review. *Nat Prod Res*. 2020 Jul;34(13):1891-1912. doi: 10.1080/14786419.2018.1564300.
- 7 Almeida RN. *Psicofarmacologia: fundamentos práticos*. 1 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2006.
- 8 Raupp IM, Sereniki A, Virtuoso S, Ghislandi C, Cavalcanti E, Silva EL, et al. Anxiolytic-like effect of chronic treatment with *Erythrina velutina* extract in the elevated plus-maze test. *J Ethnopharmacol*. 2008 Jul 23;118(2):295-9. doi: 10.1016/j.jep.2008.04.016.

- 9 Pinheiro EA, Sousa LS, Silva AA, Farias CP, Vasconcelos SMM, Honório-Junior JER. Effect of rutin on a model of chronic corticosterone-induced depression in mice. *J. Health Biol Sci.* 2018;6(2):145-151. doi: 10.12662/2317-3076jhbs.v6i2.1454.p145-151.2018
- 10 Mahendra P, Shradha B. Anti-anxiety activity of *Coriandrum sativum* as-sessed using different experimental anxiety models. *Indian J Pharmacol.* 2011 Sep;43(5):574-7. doi: 10.4103/0253-7613.84975.
- 11 Toledo AG, Souza JGL, Santana CB, Mallmann AP, Santos, CV, Corrêa JM, et al. Antimicrobial, antioxidant activity and phytochemical prospection of *Eugenia involucrata* DC. leaf extracts. *Braz. J. Biol.* 2023;83:e245753. doi: 10.1590/1519-6984.245753.
- 12 Dias KCF, Almeida JC, Vasconcelos LC, Patrocínio MLV, Barbosa TM, Ximenes NC, et al. Standardized extract of *Erythrina velutina* Willd. attenuates schizophrenia-Like behaviours and oxidative parameters in experimental animal models. *J Pharm Pharmacol.* 2019 Mar;71(3):379-389. doi: 10.1111/jphp.13039.
- 13 Ramos RM, Feitosa MJ, Lima VS, Santos RC, Oliveira AM, Soares LAL, et al. Comparative study of phytochemical composition, cytotoxicity and potentials antioxidant and photoprotector of the bark and leaf of *Erythrina velutina*. *Braz J Dev.* 2020 Jun;6(6):33140–33158. doi: 10.34117/bjdv6n6-026.
- 14 Raza MM, Al-Shabanah OA, El-Hadiyah TM, Al-Majed AA. Effect of prolonged vigabatrin treatment of hematological and biochemical parameters in plasm, liver and kidney of Swiss albino mice. *J Sci. Pharm.* 2002;70(2):135–145. doi: 10.3797/scipharm.aut-02-16.
- 15 Craveiro ACS, Carvalho DMM, Nunes RS, Fakhouri R, Rodrigues SA, Teixeira-Silva IF. Toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina* em animais experimentais. *Rev. bras. farmacogn.* 2008 Dec;18:739–743. doi: 10.1590/S0102-695X2008000500018.
- 16 Machado RJA, Monteiro NKV, Migliolo L, Silva ON, Pinto MFS, Oliveira AS, et al. Characterization and pharmacological properties of a novel multifunctional kunitz inhibitor from *Erythrina velutina* Seeds. *PLoS one.* 2013 May;8(5):e63571. doi: 10.1371/journal.pone.0063571.
- 17 de Lima-Saraiva SRG, Oliveira FGDS, Junior RGO, Araújo CS, de Oliveira AP, Pacheco AGM, et al. Chemical analysis and evaluation of antioxidant, antimicrobial, and photoprotective activities of *Schinopsis brasiliensis* engl. (Anacardiaceae). *Sci World J.* 2017 Oct;2017:1713921. doi: 10.1155/2017/1713921.
- 18 Campos AC, Fogaça MV, Aguiar DC, Guimarães FS. Animal models of anxiety disorders and stress. *Braz J Psychiatry.* 2013;35 Suppl 2:S101-11. doi: 10.1590/1516-4446-2013-1139.
- 19 Teixeira-Silva F, Santos FN, Sarasqueta DFO, Alves MFS, Neto VA, de Paula ICM, et al. Benzodiazepine-like effects of the alcohol extract from *Erythrina*

- velutina* leaves: Memory, anxiety and epilepsy. *Pharm. Biol.* 2008 Oct;46(5):321–8. doi: 10.1080/13880200801887658.
- 20 Ribeiro MD, Onusic GM, Poltronieri SC, Viana MB. Effect of *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in rats submitted to animal models of anxiety and depression. *Braz J Med Biol Res.* 2006 Feb;39(2):263-70. doi: 10.1590/s0100-879x2006000200013.
- 21 Vasconcelos SM, Macedo DS, de Melo CT, Monteiro AP, Rodrigues AC, Silveira ER, et al. Central activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in mice. *J Pharm Pharmacol.* 2004 Mar;56(3):389-93. doi: 10.1211/0022357022746.
- 22 Onusic GM, Nogueira RL, Pereira AM, Viana MB. Effect of acute treatment with a water-alcohol extract of *Erythrina mulungu* on anxiety-related responses in rats. *Braz J Med Biol Res.* 2002 Apr;35(4):473-7. doi: 10.1590/s0100-879x2002000400011.
- 23 Spruijt BM, van Hooff JA, Gispen WH. Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiol Rev.* 1992 Jul;72(3):825-52. doi: 10.1152/physrev.1992.72.3.825.
- 24 Setem J, Pinheiro AP, Motta VA, Morato S, Cruz AP. Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 1999 Mar;62(3):515-21. doi: 10.1016/s0091-3057(98)00193-2.
- 25 Fernández Espejo E. Structure of the mouse behaviour on the elevated plus-maze test of anxiety. *Behav Brain Res.* 1997 Jun;86(1):105-12. doi: 10.1016/s0166-4328(96)02245-0.
- 26 Blanchard DC, Griebel G, Blanchard RJ. Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neurosci Biobehav Rev.* 2001 May;25(3):205-18. doi: 10.1016/s0149-7634(01)00009-4.
- 27 Rodgers RJ, Cole JC, Cobain MR, Daly P, Doran PJ, Eells JR, et al. Anxiogenic-like effects of fluprazine and eltoprazine in the mouse elevated plus-maze: profile comparisons with 8-OH-DPAT, CGS 12066B, TFMPP and mCPP. *Behav Pharmacol.* 1992 Dec;3(6):621-634.
- 28 Pimenta AB. Atividade ansiolítica e antidepressiva do extrato bruto das partes aéreas da *Kielmeyera rubriflora* em camundongos. [Dissertação]. Diamantina: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; 2014.
- 29 Barbosa DF, Lima CF. Efeitos do exercício físico em comportamentos relacionados com a ansiedade em ratos. *Rev. Bras. Med. Esporte.* 2016 Mar-Abr;22(2):122-125. doi: 10.1590/1517-869220162202056634.
- 30 Dantas MC, de Oliveira FS, Bandeira SM, Batista JS, Silva CD Jr, Alves PB, et al. Central nervous system effects of the crude extract of *Erythrina velutina* on rodents. *J Ethnopharmacol.* 2004 Sep;94(1):129-33. doi: 10.1016/j.jep.2004.05.007.