

Avaliação psicofarmacológica do óleo essencial de *Piper amplum*

Psychopharmacology analysis of essential oil *Piper amplum*

DOI 10.5935/2446-4775.20170024

Zimath, Priscila Laiz^{1*}; Ribeiro, Thaís Cecília¹; Dalmagro, Ana Paula¹; Santos, Maria Eduarda dos¹; Gasparetto, Adriana¹; Cruz, Alexandre Bella¹; Malheiros, Ângela¹; Souza, Márcia Maria de¹.

¹Universidade do Vale do Itajaí-UNIVALI, R. Uruguai, 458, Centro, CEP: 88302-202, Itajaí - SC, Brasil.

*Correspondência: prizimath@gmail.com

Resumo

Espécies do gênero *Piper* são utilizadas na medicina popular e carecem de validação farmacológica. Estudos científicos com a espécie *Piper amplum* são concentrados principalmente nos efeitos antimicrobianos e pouco se sabe sobre suas ações sobre o sistema nervoso central (SNC), apesar da planta ser utilizada de forma etnofarmacológica em processos neurológicos. Portanto, para avaliar os efeitos sobre o SNC, o óleo essencial obtido de *Piper amplum* (OEPA) (50, 100, 150 mg/kg, v.o.) foi administrado em camundongos fêmeas Swiss (25-30 g/ n=8-10 animais) e 60 minutos após os mesmos foram submetidos a testes de: depressão (teste do nado forçado, TNF), deambulação motora (campo aberto, TCA e Rotarod), convulsão e hipnose. Grupos controle-positivo (fármacos usados na terapêutica) e negativo (veículo no qual o OEPA foi dissolvido) foram utilizados nas mesmas condições experimentais. Os resultados demonstraram que o tratamento com OEPA não afetou a deambulação e atividade exploratória dos animais no TCA, assim como não afetou o sistema motor no Rotarod. Não foram detectados efeitos anticonvulsivante, hipnótico e ansiolítico do OEPA, entretanto, verificou-se atividade antidepressiva no TNF nas doses testadas. Diante dos efeitos do OEPA sobre o SNC, pode-se considerar o mesmo como alvo potencial para maiores estudos relacionados a atividade antidepressiva.

Palavras-chave: Óleo essencial. Atividade Psicofarmacológica. *Piper amplum*. OEPA.

Abstract

Species of the genus *Piper* used are in folk medicine and need pharmacological validation. Scientific studies with *Piper amplum* species are mainly concentrated on antimicrobial effects, little known is about their actions on the central nervous system (CNS), although the plant is ethnopharmacological used in neurological processes. Therefore, to evaluate the effects on the CNS, the essential oil obtained from *Piper amplum* (OEPA) (50, 100-150 mg/kg, p.o.) was administered in Swiss female mice (25-30 g/ n=8-10 animals) and 60 minutes after, the same were submitted to tests: depression forced swimming test, FST), motor ambulation (open field, OFT and Rotarod), seizure and hypnosis. Control-positive (drugs used in therapy)

and negative (vehicle in which OEPA was dissolved) control groups were used under the same experimental conditions. The results showed that OEPA treatment did not affect the ambulation and exploratory activity of the animals in the OFT, and did not affect the motor system in Rotarod. No anticonvulsive, hypnotic and anxiolytic effects of OEPA detected were, however, antidepressant activity in TNF at all doses tested. In view of the effects demonstrated by the OEPA on the CNS, it can be considered the same as a potential target for further studies related to antidepressant activity.

Keywords: Essential oil. Psychopharmacology activity. *Piper amplum*. OEPA.

Introdução

Na cultura e nos hábitos da população brasileira o uso das plantas medicinais é fundamentado como uma prática tradicional, sendo muitas vezes o único recurso utilizado na atenção à saúde (Veiga, Pinto e Maciel, 2005). O Brasil possui uma grande biodiversidade, considerada uma das maiores no mundo: cerca de 15 a 20% da biodiversidade mundial está concentrada em território brasileiro, o qual é considerado como um berço inesgotável de novas substâncias biologicamente ativas. Ressalta-se que apesar dessa extensa riqueza natural, apenas uma pequena parcela, em torno de 8% da biodiversidade foi estudada até o momento (Barreiro e Bolzani, 2009).

Calixto (2005) apontou que, até o fim do século XX, a falta de estudos e a carente tecnologia disponível impediram a provisão de avaliações de qualidade a respeito da eficácia e segurança de várias plantas utilizadas corriqueiramente pela população. Tendo em vista que as plantas são organismos complexos, apresentando uma variedade de substâncias químicas com características potencialmente tóxicas e irritantes, paliativas e/ou farmacológicas diferentes, exige-se o conhecimento de seus componentes químicos, como um fator fundamental no esclarecimento dos diferentes aspectos relacionados aos casos de intoxicação e ação farmacológica (Souza et al., 2011).

As plantas com propriedades terapêuticas, utilizadas no cuidado da saúde tradicional, constituem uma importante fonte de novos compostos biologicamente ativos, os quais são oriundos, muitas vezes, do extrato ou óleo essencial das mesmas (Tolardo, 2008). Os óleos essenciais são originados do metabolismo secundário das plantas, possuem composição química complexa e estão relacionados com diversas funções necessárias à sobrevivência vegetal (Gonçalves et al., 2003).

A família Piperaceae tem larga distribuição no mundo, sendo composta por 10 gêneros contendo em torno de 2.300 espécies. No Brasil, esta família está representada por cinco gêneros: *Piper*, *Peperomea*, *Potomorphe*, *Ottonia* e *Sarcorrhachis*. O gênero *Piper* possui 700 espécies distribuídas em ambos os hemisférios, normalmente como arbustos ou árvores, com grande importância comercial, econômica e medicinal (Wanke et al., 2007). Também são utilizadas na medicina tradicional chinesa e na América Latina para o tratamento de algumas enfermidades, devido as propriedades biológicas e farmacológicas de compostos presentes no gênero (Ma et al., 2004; Santos et al., 2012).

O gênero *Piper* possui várias espécies com comprovada ação anticonvulsivante em modelos pré-clínicos de convulsão induzida química e eletricamente (Maia, 2016). Piperina, um alcaloide presente no gênero, apresenta efeito anticonvulsivante via mecanismos gabaérgicos e glutamatérgicos (Cruz et al., 2013).

A *Piper methysticum* Forst, popularmente conhecida como Kava-Kava, é utilizada na medicina tradicional há mais 3 mil anos pela sua atividade ansiolítica e antidepressiva (Johnston e Rogers, 2006) e, entre os anos de 1999 a 2002, esteve entre os 10 medicamentos fitoterápicos mais vendidos no Brasil (Showman et al., 2015).

A *Piper amplum*, conhecida popularmente como "caabepa, jaborandi, murta ou pariparoba", distribui-se geograficamente pelo Brasil nos estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e Santa Catarina (Guimarães e Monteiro, 2006). Estudos fitoquímicos e farmacológicos realizados por Soletti (2015) demonstraram que seu óleo essencial apresenta atividade antifúngica e antimicrobiana. Na medicina popular o óleo essencial da planta é utilizado para distúrbios neurológicos sem a validação científica apropriada, portanto, por pertencer a um gênero no qual há espécies com características farmacológicas importantes e, por ser pouco explorada farmacologicamente, o presente estudo se propôs a avaliar os efeitos centrais do óleo essencial da planta em modelos farmacológicos específicos.

Materiais e Método

Material Vegetal

As folhas de *Piper amplum* foram coletadas no município de Blumenau/SC, Brasil (latitude: 26°97'69,66" S, longitude: 49°06'24,31" O e altitude: 200m). Uma exsicata foi identificada pelo botânico André Luís Gasper, e depositada no Herbário Dr. Roberto Miguel Klein da Universidade Regional de Blumenau, sob o número 41606.

As folhas foram secas (119,27g) em sala de secagem com temperatura ambiente e umidade controlada, durante 5 a 7 dias, com o objetivo de minimizar a perda de compostos voláteis. Posteriormente foram trituradas com triturador de plantas.

A extração do óleo essencial de *Piper amplum* foi realizado pelo método de hidrodestilação, utilizando um aparelho do tipo Clevenger, durante um período de quatro horas. O procedimento foi repetido com o mesmo material vegetal por mais quatro horas no dia seguinte. O óleo essencial obtido foi nomeado OEPA (sigla em Português do Brasil), com um rendimento de 0,996%.

Animais

Para todos os ensaios farmacológicos foram utilizados camundongos Swiss fêmeas pesando aproximadamente 30g. Cada animal foi utilizado apenas uma vez. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI), acondicionados a uma temperatura de 22 ± 2 C° em ciclo claro/escuro de 12 horas, tendo livre acesso a comida e água, exceto durante os procedimentos experimentais. Os animais foram mantidos no laboratório para adaptação por um período de pelo menos uma hora antes do experimento. Todos os protocolos experimentais foram desenvolvidos de acordo com os princípios de ética e bem-estar animal recomendados pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCASL) e foram aprovados pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) da UNIVALI, conforme o parecer 041/14. O número de animais ($n = 8-10$) e a intensidade de estímulos nocivos utilizados eram os mínimos necessários para demonstrar os efeitos do tratamento com a planta. As doses utilizadas no estudo foram abaixo do que as que produzem efeitos tóxicos.

Drogas e tratamentos

Fluoxetina, pentilenotetrazol, fenobarbital e pentobarbital foram adquiridos a partir de Sigma, (St. Louis, EUA). O diazepam foi adquirido pela Cristália Prod. Química Farm. Ltda., São Paulo, Brasil. Estas drogas foram diluídas em solução salina isotônica (0,9% de NaCl), imediatamente antes da administração e foram administradas por via intraperitoneal (i.p.), 30 minutos antes dos testes.

O OEPA (nas concentrações de 50, 100 e 150 mg/kg) foi emulsionado com 2% de Tween 80 (Sigma - EUA) e dissolvido em água destilada, assim como as doses de veículo, e administrado via oral (v.o.) 60 minutos antes dos testes (Clough, 2006). As doses de OEPA foram definidas conforme trabalhos anteriores realizados pelo Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR) da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI) (Soletti, 2015; Maia, 2016). Todas as doses foram administradas a uma concentração de 10 mL/kg.

Teste do campo aberto (TCA)

O aparato usado para os testes com camundongos foi feito de madeira (30 x 30 x 15 cm), com uma frente de vidro para melhor visualização dos animais. O interior do aparato foi subdividido em 9 quadrantes. Grupos de animais pré-selecionados foram tratados com veículo ou OEPA (óleo essencial de *Piper amplum*) (50, 100, e 150 mg/kg, v.o.), administrados oralmente 60 minutos antes do teste. Foram observados os seguintes parâmetros: número de cruzamentos de quadrante (crossing) e número de tentativas de levantar o corpo sobre as patas traseiras (*rearing*) (Oliveira et al., 2006). O tempo de observação foi de 6 minutos.

Rotarod

Neste teste, os animais foram pré-selecionados numa sessão de treino 24h antes do ensaio, com base na sua capacidade de permanecer na barra giratória (a 12 rpm) durante 60 segundos. Grupos de animais pré-selecionados foram tratados com veículo ou OEPA (50, 100, e 150 mg/kg, v.o.). Uma hora após o tratamento, os animais foram colocados com todas as quatro patas sobre a barra, o número de quedas e o tempo em que o animal permanecia na barra giratória foi cronometrado. O tempo máximo permitido foi de 60 segundos (Dunham e Miya, 1957).

Teste de natação forçada (TNF)

O TNF, conforme descrito por Porsolt, Bertin e Jalfre (1977), foi realizado para investigação do efeito tipo-antidepressivo. Dois grupos controles foram testados: positivo (fluoxetina 20 mg/kg, i.p.) e negativo (veículo, v.o.). Doses de OEPA foram administradas oralmente 60 minutos antes dos testes. Os animais foram então colocados individualmente num tanque de vidro, 25 cm de altura e 10 cm de diâmetro, que estava cheio com água a uma temperatura de 24 a 25 °C. Os animais foram mantidos no tanque durante 6 minutos. O tempo de imobilidade dos animais foi usado como parâmetro, comportamento este, que indica o estado de desesperança do animal após perceber que a fuga do recipiente não seria possível (Holzmann et al., 2015).

Modelo do sono induzido por barbitúricos (MSB)

Para investigação de um possível efeito hipnótico da planta em estudo, foi utilizado o modelo de sono induzido por barbitúricos (MSB) conforme descrito por Devi et al. (2003) com pequenas modificações. Após 60 minutos dos tratamentos foi administrado pentobarbital (50 mg/kg, i.p.). Imediatamente os animais foram

colocados individualmente sob funis de vidro. A latência para o sono e o tempo total de sono foram cronometrados e representados respectivamente pela perda e recuperação do reflexo postural (Devi et al., 2003; Franco et al., 2005). Nesse teste foi utilizado o diazepam (2mg/kg, via i.p.) como controle positivo.

Convulsão induzida por pentilenotetrazol (PTZ)

Para avaliar a atividade anticonvulsivante do extrato da planta, foi utilizado o modelo de convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ), conforme descrito por Kasture, Kasture e Chopde (2002). Após 60 min dos tratamentos, os animais receberam PTZ (100 mg/kg, i.p.). Imediatamente após a administração do PTZ, os animais foram colocados sob funis de vidro e observados num período de 60 min, para verificação do tempo de latência para primeira crise convulsiva, tipo de crise convulsiva e óbitos (Kasture, Kasture e Chopde, 2002). Nesse teste foi utilizado o fenobarbital (50 mg/kg, i.p.) como controle positivo.

Análise estatística

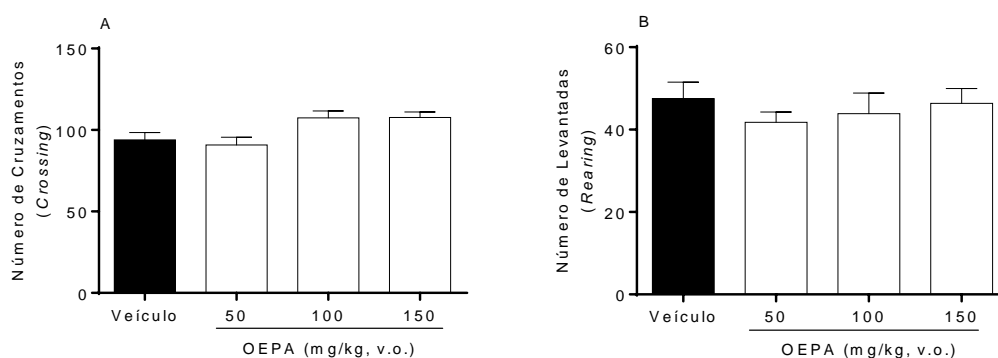
Foi utilizado o software GraphPad® versão 6.0 e Microsoft Excel® 2013 para tratamento dos dados. Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente através da análise de variância de uma ou duas vias (ANOVA), quando aplicável, seguido do Teste de Tukey. Os dados foram apresentados como médias, seguidos do erro padrão médio (EPM). Foram considerados significativos os resultados com $p < 0,05$ (Herrera-Ruiz et al., 2006).

Resultados

Avaliação do efeito do OEPA sobre a deambulação dos animais através do TCA e da capacidade motora pelo teste do Rotarod

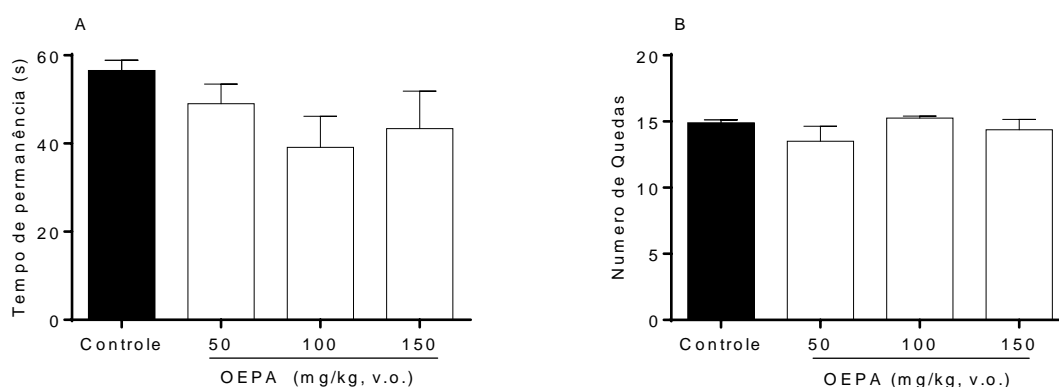
A FIGURA 1 mostra o efeito do tratamento dos animais com OEPA (50, 100 e 150 mg/kg), administrados por via oral no teste do campo aberto. Observa-se que o tratamento não promoveu alteração nos parâmetros do teste, não havendo diferença entre o número de cruzamentos (crossing) (A) ($F(3,27) = 4.28$) e comportamento exploratório, caracterizado pelo número de levantadas (rearing) (B) ($F(3,27) = 0.46$) entre os grupos.

FIGURA 1: Efeito da administração do OEPA (50, 100, 150 mg/kg, v.o sobre os parâmetros comportamentais de camundongos submetidos ao TCA. (A) - número de cruzamentos (crossing) e (B) - número de atividade exploratória (rearing) (B). Cada coluna representa a média de 8-10 animais e as barras verticais indicam os EPMs. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA seguido pelo teste de Tukey.



A **FIGURA 2** (A/B) mostra o efeito do tratamento dos animais com OEPA (50, 100 e 150 mg/kg), administrados por via oral no teste do Rotarod. O tempo de permanência dos animais no aparato durante o teste (A) apresentou perfil adequado, não havendo diferença significativa quando comparado com o grupo controle negativo ($F(3,30) = 1.79$) assim como o número de quedas (B) ($F(3,30) = 1.26$). Os resultados encontrados no teste do Rotarod sugerem que a coordenação motora dos animais não foi prejudicada.

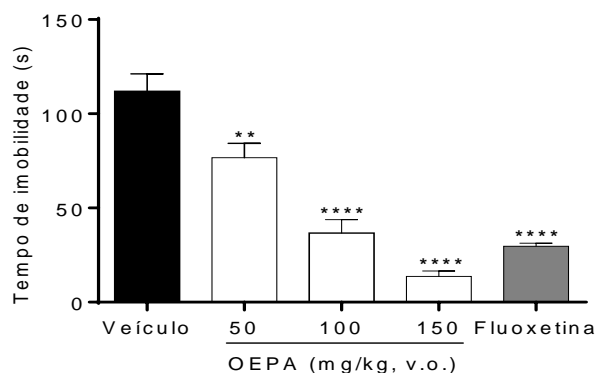
FIGURA 2: Efeito da administração do OEPA (50, 100, 150 mg/kg, v.o.), administrado em camundongos e submetidos no teste do Rotarod. Tempo de permanência dos animais no aparato (A) e número de quedas dos animais (B). Cada coluna representa a média de 8-10 animais e as barras verticais indicam os EPMS. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA seguido pelo teste de Tukey.



Avaliação do efeito OEPA sobre a depressão dos animais através do TNF

No TNF, apresentado na **FIGURA 3**, demonstra que o OEPA, na dose de 100 e 150 mg/kg, promoveu excelente mudança no padrão comportamental de imobilidade dos animais comparado com o controle negativo (veículo) ($F(4,36) = 37.55$ $p < 0,0001$). No mesmo parâmetro observado, a fluoxetina (20 mg/kg, via i.p.), administrada como controle positivo, também exibiu efeito antidepressivo comparado com o controle negativo ($F(4,36) = 37.55$ $p < 0,0001$).

FIGURA 3: Efeito da administração do OEPA (50, 100, 150 mg/kg, v.o) e fluoxetina (20 mg/kg, i.p.), administrados em camundongos submetidos no TNF. Cada coluna representa a média de 8-10 animais e as barras verticais indicam os EPMS. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA seguido pelo teste de Tukey. Os asteriscos indicam diferença significativa comparadas com o grupo controle (veículo). ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$.

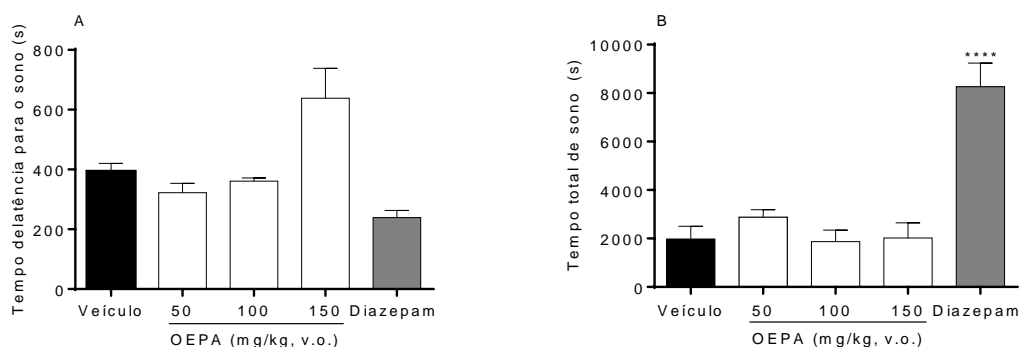


Avaliação do efeito do OEPA sobre o sono induzido por barbitúricos (MSB)

Os resultados representados na **FIGURA 4** demonstram que o tratamento dos animais com OEPA, em todas as doses testadas, não promoveu redução do tempo de latência para o sono (**FIGURA 4A**) ($F(4,33) = 10.60$), quando comparado com o grupo controle negativo (veículo).

No mesmo experimento verificou-se que o tempo total de sono (**FIGURA 4B**) não sofreu alteração ($F(4,33) = 20.28$), quando comparado com o grupo controle negativo (veículo). Em adição observou-se também que, conforme esperado, o tratamento dos animais com diazepam (1 mg/kg, i.p.) promoveu aumento significativo no tempo total de sono ($F(4,33) = 20.28$, $p < 0,0001$) quando comparado com o controle negativo (veículo), produzindo seu característico efeito hipnótico.

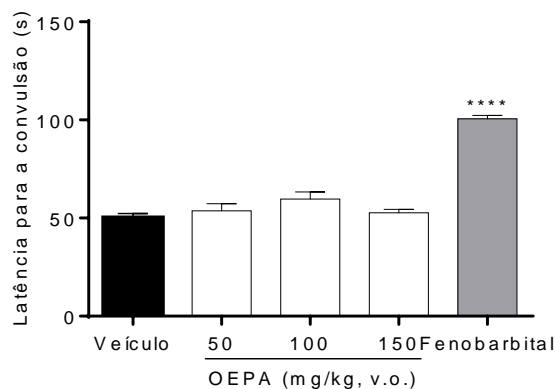
FIGURA 4: Efeito da administração de OEPA (50, 100, 150 mg/kg) e diazepam (1 mg/kg), administrados pela via oral e intraperitoneal, respectivamente em animais submetidos ao MSB. (A) - latência para o sono, (B)- tempo total de sono. Cada coluna representa a média de 8-10 animais e as barras verticais indicam os EPMS. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA seguido pelo teste de Tukey. Asteriscos denotam diferenças significativas (**** $p < 0,001$) comparado ao veículo.



Avaliação do efeito do OEPA sobre a convulsão induzida por PTZ

Procedeu-se a investigação da propriedade anticonvulsivante avaliando o efeito do OEPA no modelo de antagonismo da convulsão induzida por Pentilenotetrazol (PTZ) (**FIGURA 5**). Neste modelo os animais que receberam tratamento com OEPA não apresentaram aumento significativo da latência para a primeira crise convulsiva ($F(4,33) = 78.61$), quando comparado com os animais tratados com o veículo. Além disso, o tratamento não protegeu os animais contra a letalidade induzida pelo PTZ, uma vez que os animais não sobreviveram às crises tônicas induzidas pelo PTZ (resultados não mostrados). O fenobarbital, utilizado como controle positivo, apresentou efeito anticonvulsivante ($F(4,33) = 78.61$, $p < 0,0001$), aumentando significativamente a latência para a convulsão, quando comparado com o veículo.

FIGURA 5: Efeito da administração do OEPA (50, 100, 150 mg/kg, v.o.) e fenobarbital (50 mg/kg, i.p.), administrados a camundongos submetidos ao MSB. Cada coluna representa a média de 8-10 animais e as barras verticais indicam os EPMS. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA seguido pelo teste de Tukey. Asteriscos denotam diferenças significativas ($***p<0.001$) comparado ao veículo.



Discussão

Compostos biologicamente ativos de plantas medicinais, como extratos e óleos essenciais, são citados frequentemente como uma fonte potencial de novas drogas, incluindo para desordens do SNC. Óleos essenciais são compostos orgânicos do material vegetal, constituídos principalmente de monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides, ésteres e outras substâncias de baixo peso molecular. São muito utilizados etnofarmacologicamente como agentes para aromaterapia, restauração do bem-estar emocional, antidepressivos, ansiolíticos e para a diminuição dos quadros de estresse; e topicamente pelas propriedades antibióticas e antivirais (Setzer, 2009; Cooke e Ernst, 2000).

Estudos prévios realizados pelo grupo de pesquisa NIQFAR/UNIVALI reportam o perfil fitoquímico do OEPA, sendo que aproximadamente 48% é constituído por isômeros trans-dihidroagarofurano e 4-epi-cis-dihidroagarofurano. Outros compostos identificados foram γ -eudesmol (7.64 a 11.65%), β -cariofileno (5.94 a 8.69%), elemol (5.89 a 9.15%), α -pineno (2.63 a 5.43%) e canfeno (2.16 a 4.55%) (Soletti, 2015).

Extratos e óleos essenciais de espécies de gênero *Piper* possuem atividades psicofarmacológicas muito bem descritas, além do uso popular já empregado. Na medicina africana, o chá das folhas de *P. amalago* é utilizado para sintomas de epilepsia, ansiedade, estresse e também para manutenção do sono, devido suas propriedades sedativas (Arvigo e Balick, 1998; Bourbonnais-Spear et al., 2005; Coe, 2008). *Piper methysticum*, conhecida popularmente como kava-kava, é descrita como efetivo agente ansiolítico, e utilizada no tratamento de ansiedade generalizada. Recentemente, estudos comprovaram sua efetividade para tratamento de distúrbios do SNC, como o estresse e depressão, sendo que muitas vezes a kava-kava é retratada como análogo "natural" de ansiolíticos e antidepressivos industrializados (Showman et al., 2015).

Além de usos já comprovados em humanos com espécies do gênero, também existem vários estudos comprovando atividades psicofarmacológicas *in vivo*, em roedores. *Piper tuberculatum*, por exemplo, apresentou atividade tipo-antidepressiva e ansiolítica em ratos (Felipe et al., 2007). Tankam e Ito (2013) descreveram que ao utilizar por inalação o óleo essencial de *Piper guinnense* em camundongos, observou-se um efeito sedativo, ansiolítico, tranquilizante e anticonvulsivante. *Piper longum* demonstrou atividades

anticonvulsivantes no modelo de PTZ, possivelmente através de mecanismos GABAérgico (Juvekar, Kulkarni e Juvekar, 2008).

Devido as atividades farmacológicas relacionadas ao SNC descritas anteriormente, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do óleo essencial de *Piper amplum* administrados oralmente em animais, os quais foram submetidos a testes e modelos específicos, utilizados para o *screening* de substâncias psicoativas.

O teste do campo aberto (TCA) foi utilizado para avaliar se o OEPA afeta o sistema motor do animal (Saudou et al., 1994), pois o cruzamento de linhas e o número de levantadas estão relacionados a uma coordenação motora eficaz, além da capacidade exploratória do animal. O teste possibilita excluir o viés da capacidade motora, pois se a droga utilizada afeta o movimento, pode interferir e mascarar resultados em outros aparatos (Gomes et al., 2010), gerando resultados falso-negativos (em caso de drogas psicodépressoras) ou falso-positivos (drogas psicoestimulantes). Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que o OEPA não exerceu efeitos sobre o sistema motor do animal nas doses administradas, quando comparado com o veículo.

Estes resultados observados no TCA corroboram com os observados no teste Rotarod. Trata-se de um clássico modelo animal utilizado para avaliar bloqueio neuromuscular periférico e da coordenação motora dos animais (Dunham e Miya, 1957) promovida por agentes como os benzodiazepínicos e anestésicos (Pultrini, Galindo e Costa, 2006). Para eliminar a possível interferência da substância administrada sob a coordenação motora, a performance dos animais tratados e testados na barra rotativa do Rotarod deve mostrar-se semelhante ao do grupo controle (Blanco et al., 2009). Em nossos estudos, o tempo de permanência no aparato não foi diminuído com a administração das três doses do OEPA (50, 100 e 150 mg/kg).

Com o intuito de verificar um possível efeito depressor do SNC, utilizou-se o modelo de sono induzido por barbitúrico. Os barbitúricos apresentam suas ações farmacológicas através da interação com receptores GABA, ou seja, prolongam e potencializam a ação do GABA nos receptores GABA_A, os quais estão presentes nas membranas neuronais do SNC (Loscher e Rogawski, 2012). O modelo de sono induzido por barbitúrico é amplamente utilizado para a avaliação comportamental da insônia, na qual avalia-se a latência para o sono e o tempo total de sono. Já foi relatada atividade hipnótica e sedativa em espécies do gênero *Piper* (Tankam e Ito, 2013), porém, o OEPA não apresentou resultado significativo em todas as doses testadas.

Em contrapartida a demais estudos (Tankam e Ito, 2013), o resultado aqui observado para o modelo de sono induzido por barbitúrico, pode ser explicado pelo fato de que plantas medicinais apresentam variações no conteúdo e na proporção de metabólitos secundários, os quais são responsáveis pelas atividades biológicas. Além disso, a sazonalidade influencia quantitativamente as classes de substâncias identificadas, portanto, principalmente ao estudar óleos essenciais, a atividade biológica pode variar até mesmo numa mesma espécie (Gobbo-Neto e Lopes, 2007; Soletti, 2015).

A atividade anticonvulsivante de OEPA foi avaliada através das crises convulsivas induzidas quimicamente por PTZ, um convulsivante clássico, amplamente utilizado em triagens pré-clínicas na busca de novas abordagens terapêuticas. O PTZ exerce sua atividade convulsivante através da inibição dos canais de cloreto associado aos receptores GABA_A. Podendo ser utilizado para a pesquisa em tipos específicos de crises convulsivas, como as generalizadas do tipo de ausência ou mioclônicas como as crises tônico-clônicas

(Oliveira et al., 2016). Os resultados obtidos nesse trabalho demonstram que o OEPA não foi capaz de aumentar o tempo de latência para a crise convulsiva no teste do PTZ quando comparado com o grupo veículo.

A propriedade farmacológica avaliada nesse estudo e com resultados muito promissores, foi o efeito tipo-antidepressivo. A utilização de óleos essenciais na terapêutica da depressão como terapia alternativa ou complementar tem sido uma constante nos últimos anos (Fišler e Quante, 2014; Perry e Perry, 2006; Yil et al., 2013; Yim et al., 2009); e os efeitos antidepressivos de óleos essenciais têm sido validados em vários modelos farmacológicos de depressão, como por exemplo o teste do nado forçado (Metha et al., 2013).

O teste de natação forçada (TNF) é o teste farmacológico mais utilizado na pesquisa para avaliar compostos com potencial antidepressivo em roedores (Silva et al., 2007). Quando os animais são expostos ao TNF eles geralmente exibem uma postura imóvel que é considerado reflexo de um estado de “desespero comportamental”, no pressuposto de que os animais perderam a esperança de escapar (Porsolt, Bertin e Jalfre, 1977). Portanto, a exposição ao estresse de nadar produz uma mudança de comportamento que é tido como um fenótipo comportamental semelhante ao da depressão (Valvassori et al., 2013). Está bem estabelecido que tratamento subagudo com a maioria das classes de antidepressivos, incluindo inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRSs), inibidores seletivos de recaptção de noradrenalina (IRSN), tricíclicos antidepressivos (ADT) e os inibidores da monoamina oxidase (IMAO) reduzem o tempo de imobilidade no TNF (Guan et al., 2014).

Na literatura científica não existem publicações sobre atividade biológica de óleos essenciais de *P. amplum*. Destaca-se então a relevância desta pesquisa, a qual apresentou excelente atividade tipo-antidepressiva frente ao teste da natação forçada, sem causar interferência no sistema motor dos animais. Sugere-se que, para futuros trabalhos, faz-se necessária a identificação dos compostos majoritários que compõe o óleo essencial de *P. amplum*, que provavelmente são responsáveis por tal atividade, de forma isolada ou em sinergia.

Conclusão

Os resultados obtidos a partir do óleo essencial de *P. amplum* apontam para uma atividade tipo-antidepressiva, e faz-se necessária a análise química dos componentes deste óleo para concluir quais componentes possivelmente são responsáveis por esta atividade. Ressalta-se ainda que o mesmo não interferiu na capacidade exploratória ou mobilidade dos animais, além de não exercer atividade hipnótica, sedativa ou anticonvulsivante. Outros experimentos são necessários para investigar quais os mecanismos de ação pelo qual o óleo essencial de *P. amplum* promove o efeito tipo- antidepressivo.

Agradecimentos

Agradecemos a Uniedu/Fundes pela concessão da bolsa de pesquisa, a qual possibilitou a realização da pesquisa.

Referências

Arvigo R, Balick M. **Rainforest Remedies One hundred healing herbs of Belize**. 2ª ed., Lotus Press, Twin Lakes, WI, 1998. ISBN-10: 0914955136. [\[Link\]](#)

Barreiro EJ, Bolzani VS. Biodiversidade: Fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Quim Nova**. São Paulo. 2009; 32(3): 679-688. ISSN 1678-7064. [\[CrossRef\]](#).

Blanco MM, Costa CARA, Fraire AO, Santos JG, Costa M. Neurobehavioral effect of essential oil of *Cymbopogon citratus* in mice. **Phytomed**. 2009; 16 (1): 265-270. e-ISSN: 1618-095X. [\[CrossRef\]](#).

Bourbonnais-Spear N, Awad R, Maquin P, Cal V, Vindas PS, Poveda L, et al. Plant use by the Q'eqchi' Maya of Belize in ethnopsychiatry and neurological pathology. **Econom Bot**. 2005; 59 (1): 326-336. ISSN: 1874-9364. [\[CrossRef\]](#).

Calixto JB. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. **J Ethnopharmac**. 2005; 100 (12): 131 - 134. ISSN: 0378-8741. [\[CrossRef\]](#).

Clough G. **The animal house: design, equipment and environmental control**. In: Poole T. The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals. 7th ed. British: Blackwell Science. 2006; 1: 97-136. 848p. ISBN: 978-1-4051-7523-4. [\[Link\]](#).

Coe FG. Rama midwifery in eastern Nicaragua. **J Ethnopharmac**. 2008; 117 (1): 136-157. ISSN: 0378-8741. [\[CrossRef\]](#).

Cooke B, Ernst E. Aromatherapy: a systematic review. **Br J of Gen Pract**. 2000; 50 (1): 493-496. [\[PubMed\]](#).

Cruz GM, Felipe CF, Scorza FA, Costa MA, Tavares AF, Menezes ML, et al. Piperine decreases pilocarpine-induced convulsions by GABAergic mechanisms. **Pharmac Biochem Beh**. 2013; 104 (1): 144-153. [\[CrossRef\]](#).

Devi KP, Sreepriya M, Devaki T, Balakrishna K. Antinociceptive and hypnotic effects of *Premna tomentosa* L. (Verbenaceae) in experimental animals. **Biochem Beh**. 2003; 75 (1): 261-264. [\[PubMed\]](#).

Dunham NW, Miya TS. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **J Am Pharmac Ass**. 1957; 26 (1): 208-210. [\[CrossRef\]](#).

Franco CI, Morais, LC, Quintans-Júnior LJ, Almeida RN, Antonioli AR. CNS pharmacological effects of the hydroalcoholic extract of *Sida cordifolia* L. leaves. **J Ethnopharm**. 2005; 98 (3): 275-279. [\[CrossRef\]](#).

Felipe FCB, Sousa Filho JT, Souza LEO, Silveira JA, Uchoa DEA, Silveira ER, et al. Piplartine, an amide alkaloid from *Piper tuberculatum*, presents anxiolytic and antidepressant effects in mice. **Phytomed**. 2007; 14 (1): 605-612. [\[CrossRef\]](#).

Fißler M, Quante A. A case series on the use of lavender oil capsules in patients suffering from major depressive disorder and symptoms of psychomotor agitation, insomnia and anxiety. **Comp Ther Med**. 2014; 22 (1): 63-69. [\[CrossRef\]](#).

Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas Medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím Nova**. 2007; 30 (2): 374-381. [[CrossRef](#)].

Gomes PB, Feitosa ML, Silva MIG, Noronha EC, Moura BL, Venâncio ET, et al. Anxiolytic-like effect of the monoterpene 1,4-cineole in mice. **Pharmac Biochem Behav**. 2010; 96 (1): 287-293. [[CrossRef](#)].

Gonçalves LA, Barbosa LCA, Azevedo AA, Casali VWD, Nascimento EA. Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.) em resposta a dois níveis de radiação solar. **Rev Bras PI Med**. 2003; 6 (1): 8-14. [[ResearchGate](#)].

Guan X, Shao F, Xie X, Chen L, Wang W. Effects of aspirin on immobile behavior and endocrine and immune changes in the forced swimming test: Comparison to fluoxetine and imipramine. **Pharm Biochem Behav**. 2014; 124 (1): 361-366. [[CrossRef](#)].

Guimarães EF, Monteiro D. Piperaceae na reserva biológica de Poço das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodrig**. 2006; 57 (1): 567-587. [[Link](#)].

Herrera-Ruiz M, Jiménez-Ferrer JE, Lima TCM, Avilés-Montes D, Pérez-García D, González-Cortazar M, et al. Anxiolytic and antidepressant-like activity of a standardized extract from *Galphimia glauca*. **Phytomed**. 2006; 13 (1): 23-28. [[CrossRef](#)].

Holzmann I, Silva LM, Silva CJA, Steimbach VM, Souza MM. Antidepressant-like effect of quercetin in bulbectomized mice and involvement of the antioxidant defenses, and the glutamatergic and oxidonitric pathways. **Pharmac Biochem Behav**. 2015; 136 (1): 55-63. [[CrossRef](#)].

Johnston E, Rogers H. **Hawaiian 'Awa**: Views of an ethnobotanical treasure. Hilo, Hawaii: Association for Hawaiian 'Awa, pp. 1–7, 30–63, 2006. [[Link](#)].

Juvekar MR, Kulkarni MP, Juvekar AR. Anti-stress, nootropic and anticonvulsant potential of fruit extracts of *Piper longum* L. **PI Méd**. 2008; 74 (9): 74-88. [[CrossRef](#)].

Kasture VS, Kasture SB, Chopde CT. Anticonvulsive activity of Buteamonosperma flowers in laboratory animals. **Pharm Biochem Behav**. 2002; 72 (1): 965-972. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

Loscher W, Rogawski M. How theories evolved concerning the mechanism of action of barbiturates. **Epilep**. 2012; 53 (8): 12–25. [[CrossRef](#)].

Ma J, Jones SH, Marshall R, Johnson RK, Hecht SM. A DNA-damaging oxoaporphine alkaloid from *Piper caninum*. **J Nat Prod**. 2004; 67 (7): 1162-1164. [[CrossRef](#)].

Maia MA. **Avaliação das propriedades psicofarmacológicas do extrato etanólico obtido das folhas de *Piper cernuum*: ênfase na atividade antidepressiva**. Itajaí; 2016. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas], Universidade do Vale do Itajaí, UNIVALI.

Metha AK, Halder S, Khanna N, Tandon OP, Sharma KK. The effect of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* in animal models of depression and locomotor activity. **Nutr Neurosci**. 2013; 16 (5): 233-238. [[CrossRef](#)].

Oliveira CC, Oliveira CV, Grigoletto J, Ribeiro LR, Funck VR, Grauncke AC, et al. Anticonvulsant activity of β -caryophyllene against pentylenetetrazol-induced seizures. **Epilepsy Behav.** 2016; 56 (1): 26-31. [[CrossRef](#)].

Oliveira L, Cunha AOS, Mortari MR, Coimbra NC, Santos WF. Cataleptic activity of the denatured venom of the social wasp *Agelaia vicina* (Hymenoptera, Vespidae) in *Rattus norvegicus* (Rodentia, Muridae). **Prog Neuropsych Bio Psych.** 2006; 30 (1): 198-203. [[CrossRef](#)].

Perry N, Perry E. Aromatherapy in the management of psychiatric disorders: clinical and neuropharmacological perspectives. **CNS Drugs.** 2006; 20 (4): 257-280. [[PubMed](#)].

Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch Int Pharmacodyn Ther.** 1977; 229 (1): 327–336. [[PubMed](#)].

Pultrini AM, Galindo LA, Costa M. Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice. **Life Sci.** 2006; 78 (1): 1720-1725. [[CrossRef](#)].

Santos TG, Rebelo RA, Dalmarco EM, Guedes A, Gasper AL, Bella-Cruz A, et al. Composição química e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Piper malacophyllum* (C. Presl.) C. DC.. **Quím Nova.** 2012; 35 (3): 477-481. [[CrossRef](#)].

Saudou F, Ait Amara D, Dierich A, Lemeur M, Ramboz S, Segu L. Enhanced aggressive behavior in mice lacking 5-HT1b receptor. **Sci.** 1994; 265 (1): 1875-1878. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

Setzer WN. Essential oils and anxiolytic aromatherapy. **Nat Prod Commun.** 2009; 4 (9): 1305-1316. [[PubMed](#)].

Showman AF, Baker JD, Linares C, Naeole CK, Borris R, Johnston E, et al. Contemporary Pacific and Western perspectives on `awa (*Piper methysticum*) toxicology. **Fitoterapia.** 2015; 100 (1): 56–67. [[CrossRef](#)].

Silva MIG, Aquino Neto MR, Teixeira Neto PF, Moura BA, Doamaral JF, De Souza DP, et al. Central nervous system activity of acute administration of isopulegol in mice. **Pharm Biochem Beh.** 2007; 88 (1): 141-147. [[CrossRef](#)].

Soletti AG. **Efeitos da sazonalidade sobre a composição química, potencial antimicrobiano, citotóxico e mutagênico dos óleos essenciais e frações diclorometano e acetato de etila de *Piper amplum* e *Piper cernuum*.** Itajaí; 2015. Tese de Doutorado [Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas] - Universidade do Vale do itajaí, UNIVALI. [[Link](#)].

Souza FC, Oliveira ENA, Santos DC, Oliveira FAA. Uso de plantas medicinais (fitoterápicos) por mulheres da cidade de Icó-CE. **R Bio Far.** 2011; 5 (1): 161-170. [[Link](#)].

Tankam JM, Ito M. Inhalation of the essential oil of *Piper guineense* from cameroon shows sedative and anxiolytic-like effects in mice. **Bio Pharm Bull.** 2013; 36 (10): 1608-1614. [[PubMed](#)].

Tolardo R. **Avaliação farmacológica dos efeitos da *Hedyosmum brasiliense* miq. sobre o sistema nervoso central.** Itajaí; 2008. Doutorado [Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas] - Universidade do Vale do itajaí, UNIVALI. [\[Link\]](#).

Valvassori SS, Bundi J, Varela RB, Quevedo J. Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol and betulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. **R Bras Psiq.** 2013; 2 (1): 121-131. [\[CrossRef\]](#).

Veiga JVF, Pinto AC, Maciel MAM. Plantas medicinais: cura segura? **Quím Nova.** 2005; 28 (3): 529-538. [\[CrossRef\]](#).

Wanke S, Jaramillo MA, Borsch T, Samain MS, Quandt D, Neinhuis C. Evolution of Piperales-matK gene and trnK intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast. **Mol Phylogenet Evol.** 2006; 42 (2): 477-497. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

Yil LT, Li J, Geng D, Liu BB, Fu Y, Tu JQ, et al. Essential oil of *Perilla frutescens*-induced change in hippocampal expression of brain-derived neurotrophic factor in chronic unpredictable mild stress in mice. **J Ethnopharmacol.** 2013; 147 (1): 245-253. [\[CrossRef\]](#).

Yim VW, Ng AK, Tsang HW, Leung AYA. **Altern Complement Med.** 2009; 15 (2): 187-195. [\[CrossRef\]](#).

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Histórico do artigo: Submissão: 04/05/2017 | Aceite: 13/11/2017 | Publicação: 09/01/2018

Como citar este artigo: Zimath PL, Ribeiro TC, Dalmagro AP, Santos ME, Gasparetto A, Cruz AB, Malheiros A, Souza MM. Avaliação psicofarmacológica do óleo essencial de *Piper amplum*. **Revista Fitos.** Rio de Janeiro. 2017. v.11, n.2. p. 153-166. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/526>>. Acesso em: 11 maio 2017.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.
