

ESTUDO FARMACOLÓGICO DO *Heterothalamus brunioides*: DOSE LETAL, ATIVIDADE GERAL E SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Adriana Pizzutti dos Santos, Juliane Lavarda, Cláudio Sityã e Paulo Ricardo Führ.

Curso de Medicina. Centro de Ciências da Saúde. UFSM. Santa Maria, RS.
Ana Maria Chagas

Departamento de Fisiologia. Centro de Ciências da Saúde e Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais. Centro de Ciências Naturais e Exatas. UFSM. Santa Maria, RS.

RESUMO

O *Heterothalamus brunioides* Less, é um vegetal nativo da região de Santaninha da Boa Vista (RS) e utilizado na medicina popular para amenizar os efeitos tóxicos produzidos por picadas de serpentes. Objetivou-se estudar a dose letal bem como os efeitos do extrato aquoso desta planta sobre a atividade geral e sistema nervoso central em ratos Wistar. A dose letal foi de 143,2 mg/kg do extrato aquoso a frio e, quando fervido, desapareceram os efeitos tóxicos, logo é termolábil. Na atividade geral não apresentou nenhum sinal que pudesse ser contraindicado a utilização. Seu efeito sobre o sistema nervoso central é caracterizado por depressão.

SUMMARY

SANTOS, A.; LAVARDA, J.; SITYÃ, C; FÜHR, P.R. and CHAGAS, A.M. 1987.

Farmacology study of *Heterothalamus brunioides*: Lethal dosis general activity and effects upon central nervous system. *Ciência e Natura*, 9:77-86,1987.

Heterothalamus brunioides Less is a native herb in Santaninha da Boa Vista (RS), and it is used in popular medicine to decrease toxicological effect caused by snake bites. The objective of this study was to evaluate the lethal dosis as well as the effects of the aqueous extract of this plant upon the general activity and central nervous system. The lethal dosis on Wistar rats was 143,2 mg/kg of the cold aqueous extract and when it was boiled none toxicological effect was observed. So, this substance is thermolabile. Since the general activity was not effects by the use of this drug, there is no non-indication for its recommendation. The effect upon the central nervous system is characterized by depression.

INTRODUÇÃO

O *Heterothalamus brunioides* Less é um arbusto nativo da região Sul, utilizado na medicina popular e vulgarmente conhecido como Alecrim do Campo. Arbusto com caule lenhoso, despido na metade, ramificado e bastante ornados de folhas estreitas e lineares na

parte superior; as folhas quando esfregadas, especialmente depois de secas, despreendem um cheiro muito agradável (9), Figura 1.

Este vegetal é da mesma família da *Baccharis taenella* e, por isso, considerado idêntico por CABRERA (2).

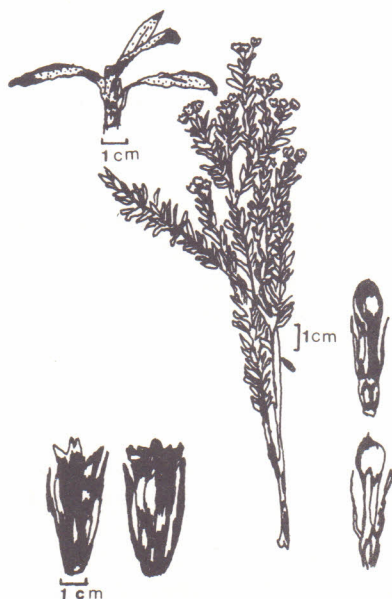


Figura 1 - *Heterothalamus brunioides*.

Em 1982, NAKAGAWA e NAKANISHI (11), isolaram e identificaram duas isoflavonas: a Carbenegrina A-I e A-II, de um extrato alcoólico das raízes de uma planta do Sul denominada vulgarmente "Cabeça de Negra", que mostraram ser ativos antídotos contra o veneno de *Bothrops atrox*.

O *Heterothalamus brunioides* sob forma de extrato aquoso, foi utilizado via oral e intraperitoneal (40 mg/kg e 98 mg/kg) durante diferentes intervalos de tempo em ratos Wistar e, quando analisada as alterações sanguíneas de leucograma, eritrograma, hemoglobina, hematócrito e tempo de coagulação, observou-se que não produz alterações nestes parâmetros estudados (5).

Atualmente existem várias pesquisas envolvendo produtos naturais com o intuito de verificar seus possíveis efeitos farmacológicos e a possibilidade de posterior utilização na Medicina Humana (1, 5, 6, 8, 11, 12). Com base nestes fatos os autores estudaram *Heterothalamus brunioides* quanto a sua toxicidade, alteração da atividade geral e atuação sobre o sistema nervoso central em camundongos, uma vez que é usado na Medicina popular Humana e Veterinária

um extrato aquoso bastante concentrado e administrado oralmente durante alguns dias, no caso de envenenamento por picada de serpentes (11).

MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho utilizou-se 1010 camundongos sadios, machos, com peso de 30 ± 2 gramas fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria.

Para realização do presente trabalho foi necessário dividi-lo em 3 etapas:

1ª etapa: 886 camundongos foram divididos em três grupos. No primeiro, com 310 camundongos, analisou-se a dose letal do extrato aquoso de *Heterothalamus brunioides* à frio; no segundo, com 266 animais, avaliou-se a dose letal do extrato aquoso do *Heterothalamus brunioides* obtido por fervura de 10 minutos e no terceiro grupo, com 310 camundongos, avaliou-se a dose letal após o extrato passar por uma destilação simples.

As doses utilizadas no experimento em que o extrato aquoso foi obtido à frio foram de 0,7 a 4,9 mg/30g e no fervido foram de 2,1 a 12,6 mg/30g, e no destilado de 0,7 a 10,5 mg/30g, sendo a via de administração a oral.

2ª etapa: Avaliação da atividade geral; utilizou-se 40 animais divididos em 4 grupos. Todos os animais serviram como seu próprio controle. A técnica utilizada nesta segunda etapa foi idêntica em todos os grupos e consta dos seguintes passos: os animais receberam dois testes um anterior ao tratamento, controle, e um posterior ao tratamento, o experimental. Os 10 animais do 1º grupo receberam pela via oral, através de uma sonda gástrica 2,1 mg/30g, *Heterothalamus brunioides* em volume de 0,5 ml. Os 10 animais do 2º grupo receberam pela via oral "ad limitum" solução aquosa durante 10 dias do mesmo extrato do *Heterothalamus brunioides*. No terceiro grupo os 10 animais receberam o extrato aquoso *Heterothalamus brunioides* (2,1 mg). No quarto grupo, o procedimento nos 10 animais foi idêntico ao do anterior exceto de que neste o extrato aquoso passou antes por uma destilação simples.

Avaliação da atividade geral: Os animais foram colocados individualmente no centro da caixa de condicionamento, no assoalho (3).

O tempo de observação para cada animal foi de 30 minutos e neste tempo anotou-se: ambulação, que foi avaliada pela contagem de número de quadrados percorridos pelo animal; mudança de posição, onde observou-se alterações na postura dos animais, quantas vezes ficavam somente nas patas traseiras, pulavam, coçavam, levantavam a cabeça, deitavam-se e arranhavam a caixa. A escolha destes parâmetros

foi motivada pelas posições mais frequentes dos controles, ou seja, do comportamento dos animais antes do início do experimento. As mudanças fisiológicas como defecação e atividade urinária também foram anotadas.

3^a etapa: Utilizou-se 84 camundongos que foram testados no actôgrafo, pela técnica de VALETTE (13). Figura 2. Os camundongos eram colocados em número de três cada vez e ficavam 20 minutos para acostumarem-se com o aparelho. Após esse tempo, ligava-se o aparelho e obtinha-se o registro normal. A seguir os animais eram retirados da gaiola e administrava-se o extrato pela via oral e, após 20 minutos, iniciava-se um novo registro com duração de 45 minutos. Os registros eram obtidos em quimiógrafo com papel esfumado.

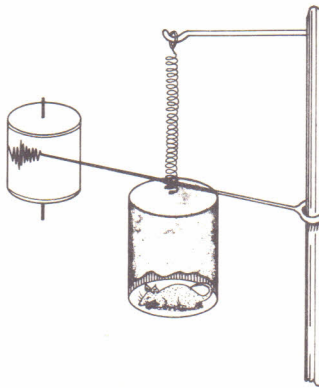


Figura 2 - Actôgrafo.

Os resultados da 2^a e 3^a etapas foram avaliados pelo teste "T" de Student com significância de 5% (7).

Preparo do extrato: O *Heterothalamus brunioides* foi coletado na região de Santaninha da Boa Vista, e, após selecionado e seco ao ar livre, foi colocado em infusão aquosa por 48 horas no refrigerador, esta foi seca em estufa a 80°C e o resíduo reservado. Quando do seu uso, preparou-se uma solução aquosa de 198,2 mg/ml.

RESULTADOS

Em nossos laboratórios estudando o *Heterothalamus brunioides* quanto a sua composição química detectou-se que, neste vegetal existe gomas e mucilans, ácidos orgânicos, saponinas, fenóis em geral, tanino pirocatíquicos, flavonóides e óleos essenciais.

Na primeira etapa deste trabalho, onde calculou-se o extrato

aquoso total à frio, fervido por 10 minutos e destilado, obteve-se os seguintes resultados:

Nos animais que receberam o extrato aquoso à frio foi observado que nas doses de 0,7 a 2,1 mg não houve morte, e a partir desta dose inicialmente apresentavam sinais de irritação peritoneal e após dificuldade respiratória, sonolência e hiperextensão da coluna vertebral.

Após 24 horas na dose de 2,8 mg/30g houve morte de 22%, com 3,5 mg/30g morreram 40%, com 4,2 mg/30g morreram 76%, e com 4,9 mg/30g morreram 100%. Tabela I.

TABELA I - RELAÇÃO ENTRE O USO DO EXTRATO AQUOSO À FRIO DO *HETERO* *THALAMUS BRUNIOIDES* NAS CONCENTRAÇÕES DE 0,7 A 4,9 mg/30g PELA VIA ORAL E SEU EFEITO LETAL.

Nº de animais	Concentrações		Mortes	
	mg/30g	mg/kg	nº absoluto	%
20	0,7	23,3	-	-
20	1,4	46,7	-	-
54	2,1	70,0	-	-
54	2,8	93,3	12	22,3
54	3,5	116,6	22	40,27
54	4,2	139,9	41	76,0
54	4,9	163,2	54	100,0

Com o extrato aquoso fervido, e na concentração de 4,9 mg/30g não houve nenhuma resposta e não morreu nenhum animal. Nas concentrações de 5,6 mg/30g e 6,3 mg/30g morreram 10%, nas concentrações de 7,0 a 8,4 mg/30g houve dificuldade respiratória leve e morreram 6,6% e assim por diante. A maior concentração estudada no extrato aquoso foi de 12,6 mg onde morreram 23,3%. Tabela II. Os sinais observados foram os mesmos, porém muito menos evidentes.

Nos animais que receberam o extrato aquoso destilado, observou-se que nas doses de 0,7; 1,4 e 2,1 mg/30g não houve morte, com 2,8 morreram 20%; 3,5 mg/30g morreram 25%; 4,2 mg/30g morreram 32,5%, 6,3 mg/30g morreram 35%; com 8,4 mg/30g morreram 61,6% e 10,5 mg/30g 96,6%, Tabela III.

Na 2ª etapa dos experimentos, ou seja, na avaliação da atividade geral, o *Heterothalamus brunioides* mostrou modificação somente pela via intraperitoneal caracterizada por sonolência, diminuição de motilidade, hiperextensão da coluna vertebral e dificuldade de deambulação. Figura 3.

Os animais que receberam *Heterothalamus brunioides*, pela via oral aguda ou sub-aguda não apresentaram alteração significativa

TABELA II - RELAÇÃO ENTRE O USO DO EXTRATO AQUOSO FERVIDO DO *HETEROTHALAMUS BRUNIOIDES* NAS CONCENTRAÇÕES DE 2,1 A 12,6 mg/30g PELA VIA ORAL E SEU EFEITO LETAL.

Nº de animais	Concentrações		Mortes	
	mg/30g	mg/kg	nº absoluto	%
5	2,1	70,0	-	-
5	2,8	93,3	-	-
6	3,5	116,6	-	-
10	4,2	139,9	-	-
10	4,9	163,2	-	-
10	5,6	186,6	1	10,0
10	6,3	209,9	1	10,0
15	7,0	233,2	1	6,6
15	7,7	256,5	1	6,6
15	8,4	279,8	1	6,6
15	9,1	303,1	2	13,3
30	9,8	326,4	6	20,0
30	10,5	349,7	5	16,6
30	11,2	373,0	6	20,0
30	11,9	396,3	7	23,3
30	12,6	419,6	7	23,3

TABELA III - RELAÇÃO ENTRE USO ORAL DO EXTRATO DESTILADO DO *HETEROTHALAMUS BRUNIOIDES* NAS CONCENTRAÇÕES DE 0,7 A 10,5 mg/30g E SEU EFEITO LETAL.

Nº de animais	Concentrações		Mortes	
	mg/30g	mg/kg	nº absoluto	%
10	0,7	23,3	-	-
10	1,4	46,7	-	-
10	2,1	70,0	-	-
20	2,8	90,0	4	20,0
40	3,5	115,0	10	25,0
40	4,2	140,0	13	32,5
60	6,3	210,0	21	35,0
60	8,4	280,0	37	61,6
60	10,5	335,0	58	96,6

na atividade geral e nos parâmetros fisiológicos, apenas desta ser diminuída em todos os casos. O extrato aquoso purificado também não causou nenhuma alteração na atividade geral, e nos parâmetros fisiológicos.

Figura 3 e 4.

Na 3ª etapa a análise dos resultados obtidos no grupo controle revelou a atividade normal dos camundongos no actôgrafo. Figura 5.

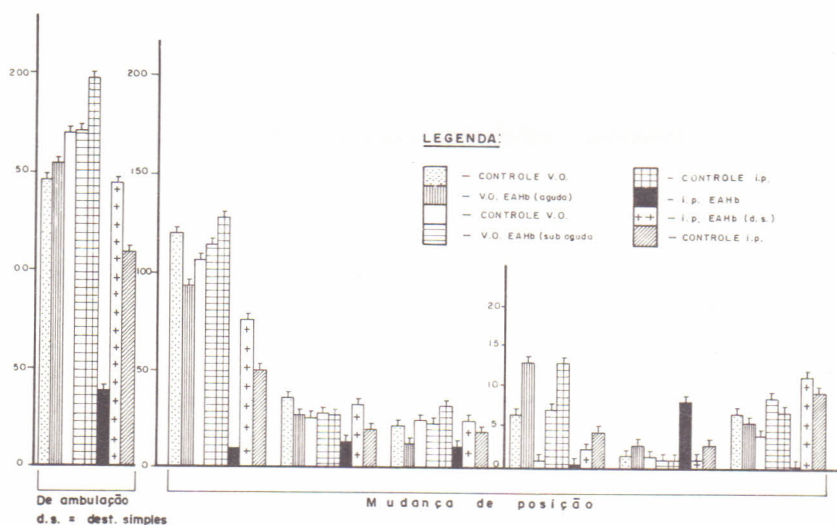


Figura 3 - Representação da ambulação e da mudança de posição, antes e após o uso de extrato aquoso de *Heterothalamus brunioides* (EAHb) aguda e subaguda (10 dias) pela via oral e intraperitoneal e do extrato destilado pela via intraperitoneal.

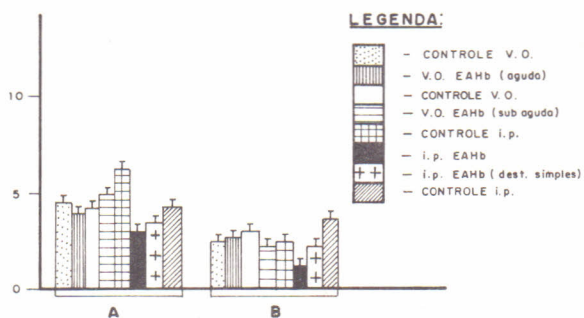


Figura 4 - Representação dos parâmetros fisiológicos (A) defecação e (B) atividade urinária antes e após o uso de extrato aquoso de *Heterothalamus brunioides* (EAHb) aguda, subaguda (10 dias) pela via oral, intraperitoneal, extrato destilado de (EAHb).

Houve uma diminuição significativa da atividade psicomotora normal dos animais, a partir das administrações pela via oral. Figura 5. Tanto antes da administração do *Heterothalamus brunioides* (Figura 5A) como após a administração (Figura 5B), foram aferidos a atividade no primeiro minuto, 5, 10 e 15 minutos.

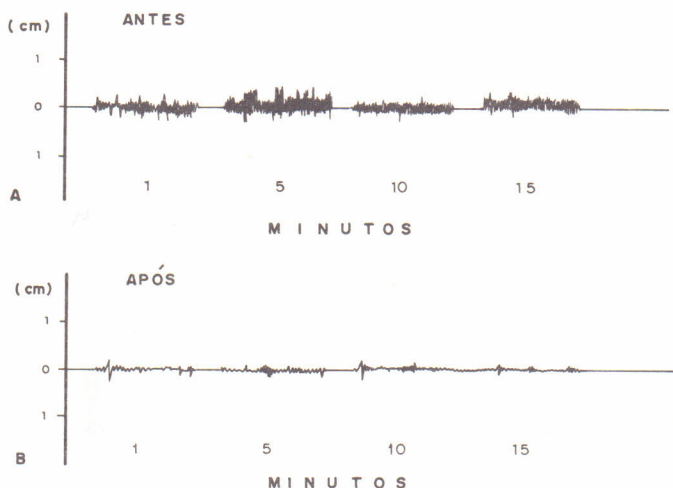


Figura 5 - Representação gráfica da atividade dos animais antes e após a administração de extrato à frio de 2,1 mg/30g de *Heterothalamus brunioides* pela via oral.

DISCUSSÃO

A dose letal 50 é a dose que produz morte em 50% dos indivíduos estudados; seu conhecimento é importante para determinar o índice terapêutico da droga que é determinado pela relação DL_{50}/DE_{50} , e o mesmo será tanto melhor quanto maior for este coeficiente. Sendo que DE_{50} representa a dose que produz determinado efeito em 50% dos indivíduos estudados (4,10). A dose letal calcula-se como $(\log DL_{50} = \text{logaritmo da menor dose utilizada} + \text{logaritmo da relação entre doses sucessivas que multiplicam a soma de uma constante de interpolação de duas médias para a obtenção de } DL_{50} \text{ e a unidade. (10)}.$

A dose letal de *Heterothalamus brunioides* foi de 143,2mg/kg quando administrou-se o extrato aquoso à frio. Ao efetuarmos a fervura do referido extrato a toxicidade diminuiu e observou-se que entre 233,2 a 279,8 mg/kg houve morte de 23,3%. Para o extrato de *Heterothalamus brunioides* destilado observou-se que a dose letal foi de 236,7 mg/kg. A primeira evidência deste estudo é que após a destilação a dose letal é maior; isto mostra que existe alguma substância de impureza que possui efeito tóxico. Podemos dizer que o extrato aquoso do referido vegetal tem seu efeito termolábil. No caso deste

vegetal apresentar efeito antídoto sobre o veneno de serpentes, podemos afirmar que a concentração que produz letalidade é alta, e que este fator não produziria problema porque dificilmente chegaríamos a esta concentração.

Em relação ao extrato fervido não foi possível calcular a DL_{50} , devido ao fato de não terem ocorridos muitas mortes, mediante a estes resultados concluímos que o efeito tóxico pode ser termolábil.

O *Heterothalamus brunioides* sobre a atividade geral, não apresentou nenhum sinal ou sintoma que pudesse contra indicar o uso deste extrato em algum tratamento. O efeito apresentado nos animais que receberam o extrato pela via intraperitoneal, talvez, seja pela ação irritativa que produz sobre o peritoneo, semelhante a outros experimentos efetuados com produtos naturais e utilizando essa via de administração (1, 2, 4, 10) ARRUDA em 1985 (1) observou modificações no comportamento de camundongos tratados com o extrato bruto de *Yulucroton lienalis*. COIMBRA (6) realizou estudo em animais com o extrato bruto de *Tabebuia ochracea* e estes mostraram diminuição da motilidade e da freqüência, analgesia, passividade e alienação.

FRANCESCHENE (8) testou o extrato bruto pela via oral e intraperitoneal de *Rawolfia weddelliana* em ratos e camundongos, e obteve pelo teste hipocrático efeito sedativo, ptose palpebral, diarreia, e concluiu que este extrato apresenta efeito depressor central e liberação de catecolaminas.

Em relação ao *Heterothalamus brunioides* há necessidade de observar se ocorre a liberação de catecolaminas o que já está sendo pesquisado em nosso laboratório.

O *Heterothalamus brunioides* sobre a atividade central, apresentou uma depressão significativa, acompanhando os dados dos experimentos da etapa anterior.

AGRADECIMENTOS

À Prof.^ã Maria Lacy C. Weis, do Departamento de Biologia da UFSM, pela revisão completa do texto, sugestões e importantes modificações apresentadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ARRUDA, E.S. *Atividade anti-inflamatória da Yucroton humilis, Fr. Diedrichs nativo de Cuiabá*. Monografia C. Especialização, CAPES, Cuiabá, M.T. 1985.
- 2 - CABREIRA, A.J. *Compuestos Bonaerenses*. Tomo IV Sección Botânica. La plata, 1941, 1-450 pp.
- 3 - CARLINI, E.A. *Farmacologia Prática sem Aparelhagem*. Sanvier Ed. Livros. São Paulo, 1973, 199 pp.

- 4 - CHAGAS, A.M.; MACHADO, E.K.; CATALDI, F.R.; BOELTER, R. & FRICK, W. - *Farmacologia Geral*. Edições UFSM. Santa Maria, 1978. 62 pp.
- 5 - CHAGAS, A.M.; SALDANHA, C.M.; CUNHA, C.M.; VIEIRA, H.; SITYÃ, J. & KURTZ, Fº Mário. Leucograma, Eritograma, Hemoglobina e tempo de coagulação após o uso oral e intraperitoneal de *Hetero thalamus brunioides* em Ratos Wistar. *Ciência e Natura* Vol.9, 1987.
- 6 - COIMBRA, C.F. *Atividade Farmacológica do "Paratudo" Tabebuia orchracea C. Stanley*. Monografia do Curso Nacional de Especialização em Farmacologia dos Produtos Naturais, Cuiabá, MT. 1985.
- 7 - DIXON, W.J. & MASSEY, F.J. *Introdução to Statical Analysis*. Mc. Graw-Hill, N.Y. Third. Edition, 1969, 638 p.
- 8 - FRANCESCHENE, G.A. *Ações Farmacológicas da "Rawolfia weddelliana" (m. arg)*. Monografia do Curso Nacional de Especialização em Farmacologia dos Produtos Naturais, Cuiabá, MT. 1985.
- 9 - HOENE, F.C. *Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais*. Ed. Graphicars. São Paulo, 1939, 268 p.
- 10- KRANYZ, J.C. & CARR, C.J. *Pharmacological Principles of Medical Practice*. The Willians & Willians Company, Baltimore 1961, 1498 p.
- 11- NAKAGAWA, M.; NAKANISHI, K. Structures of cabenegrina A-I and A-II potente anti-snake venous. *Tetrahedron Letters*, Great Britain, 23 (38):3855-8, 1974.
- 12- OVIEDO, C.A.; FRONCIANI, G.; MORENO, R. & MASS, L.C. Accion hipoglicemiante de la *Stevia rebaudiana* Bertoni (Kaa-hee). The ent. *Congr. Exarpta Med*, 209, 1970.
- 13- VALETTE, G. *Precis de Pharmacodynamie* 2ème. Ed Masson & cie. Edit Paris, 1964, 187 p.

Recebido em agosto, 1987; aceito em dezembro, 1987.